

Contribution à l'Etude du Pouvoir anticomplémentaire du Sérum

THÈSE
DE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Mention Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement en 1939

PAR
JACQUELINE DUFOR
PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PARIS

Jury : MM. FABRE, Président
GORIS, Professeur
RÉGNIER, Maître de Conférences

PARIS
IMPRIMERIE ADMINISTRATIVE CENTRALE
(Ancienne Maison JOUSSET)
8, rue de Furstenberg (6°)

1939

Contribution à l'Etude **du** **Pouvoir anticomplémentaire du Sérum**

THÈSE
DE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Mention Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement en 1939

PAR

JACQUELINE DUFOUR
PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PARIS

Jury : MM. FABRE, Président
GORIS, Professeur
RÉGNIER, Maître de Conférences

PARIS
IMPRIMERIE ADMINISTRATIVE CENTRALE
(Ancienne Maison JOUSSET)
8, rue de Furstenberg (6^e)

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS



ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. * (¶ I.),
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. * (¶ I.) Membre de l'Institut.
H. J. LIONNET, *Secrétaire* (¶ I.).

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. * (¶ I.), Membre de l'Institut. Pharmacie chimique.
GORIS, O. * (¶ I.). Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. * (¶ I.). Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. * (¶ I.). Chimie biologique.
SOMMELET, * (¶ I.). Chimie organique.
LUTZ, * (¶ I.). Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, * (¶ I.). Toxicologie.
LAUNOY, O. * (¶ I.). Zoologie.
DELABY, *, (¶ I.). Chimie analytique.
PICON, * (¶ I.). Physique.
MASCRÉ (¶ I.). Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, * (¶ I.). Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. * (¶ I.). — GUÉRIN, O. * (¶ I.).

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. * (¶ I.) et DELÉPINE, O. * (¶ I.), Membres de l'Institut,
PERROT C., * (¶ I.), COUTIÈRE, O. * (¶ I.), BOUGAULT, O. * (¶ I.) et
TASSILLY, O. * (¶ I.).

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. FLEURY (¶ I.). Hydrologie et Hygiène.
BEDEL (¶ I.). Minéralogie, Législation et
Déontologie pharmaceutiques.
RÉGNIER (¶ I.). Parasitologie.
CHARONNAT (¶ I.). Chimie et Pharmacie chimique.
JANOT. Pharmacie galénique et biologie végétale.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, travaux pratiques de 1^{re} année. Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER (¶ A.), trav. prat. de 2^e et 3^e année. Chimie analytique.
PARIS. Micrographie.
CORRIEZ. Physique.
VALETTE (¶ A.). Microbiologie.
GUILLLOT, travaux pratiques de 4^e année. Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER (¶ A.).

A MES CHERS PARENTS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. FABRE

Professeur de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Directeur des Laboratoires de Contrôle du Ministère
de la Santé Publique et de l'Académie de Médecine,
Pharmacien en chef du Groupe hospitalier Necker-Enfants Malades,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

*En témoignage de ma reconnaissance pour le grand
honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de cette
thèse et en témoignage de ma gratitude pour la bienveil-
lance avec laquelle il a dirigé mes recherches.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORIS

Membre de l'Académie de Médecine.
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux.
Officier de la Légion d'Honneur.

*Avec l'expression de ma gratitude et mes profonds
remerciements.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ REGNIER

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien-Chef de l'Hôpital Ambroise Paré.

*En remerciement pour sa bienveillance qui m'a tou-
jours été si précieuse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. NATTAN-LARRIER

Professeur au Collège de France.

Membre du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France
et de la Commission des Sérums.

Officier de la Légion d'Honneur.

*En témoignage de ma très grande reconnaissance et de
ma respectueuse affection.*

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Un sérum humain a été conservé pendant plus de 8 jours à la glacière; un sérum de Lapin a été chauffé pendant 30 minutes à 54-57°. On introduit 0 cc. 1 de l'un ou de l'autre de ces sérums dans un tube à hémolyse; on ajoute dans ce tube 0 cc. 2 d'eau physiologique et 0 cc. 1 d'alexine au taux du jour; le mélange est alors rapidement agité. D'autre part, un second tube, le tube témoin, reçoit la même quantité d'alexine et 0 cc. 3 d'eau physiologique, mais on n'y ajoute pas de sérum vieilli ou chauffé. Les deux tubes sont mis à l'étuve à 37°. Au bout de 1 heure 1/2, on les en retire et on introduit dans chacun d'eux un système hémolytique — 0 cc. 1 d'une suspension à 5 p. 100 de globules rouges de Mouton et 0 cc. 1 de sérum hémolytique antimouton. On remet les deux tubes à l'étuve où on les laisse pendant une demi-heure. On constate alors que la dissolution des globules rouges ne s'est pas produite dans le tube contenant du sérum, mais est complète dans le tube témoin. Dans le premier tube, le sérum vieilli ou chauffé a empêché l'alexine d'exercer son action lytique : on dit donc que le sérum employé contenait une substance

antihémolytique, antilytique, antialexique, anticomplémentaire ou qu'il possédait un pouvoir antihémolytique, antilytique, antialexique, anticomplémentaire.

Malgré les remarquables travaux qui ont été consacrés à l'étude du pouvoir anticomplémentaire des sérums, on ne connaît encore ni son origine, ni les conditions de sa formation, ni son mode d'action ; mais on sait, du moins, qu'il apporte un sérieux obstacle aux recherches sérologiques fondées sur la fixation du complément ; un sérum fortement anticomplémentaire ne peut pas être employé pour la réaction de Bordet-Gengou puisque, sans contenir de sensibilisatrice spécifique, il peut fixer l'alexine. De même un sérum humain, s'il possède un pouvoir anticomplémentaire élevé, ne peut être soumis à la réaction de Bordet-Wassermann, puisqu'il fixe l'alexine, en présence de l'antigène approprié, même s'il provient d'un sujet indemne de syphilis.

Nous avons groupé dans cette thèse les résultats des nombreuses expériences auxquelles nous avons collaboré ; nous avons décrit diverses méthodes qui permettent soit de s'opposer au développement du pouvoir anticomplémentaire, soit de l'atténuer ; nous avons essayé de résumer les modifications qui peuvent être apportées aux réactions de Bordet-Gengou et de Bordet-Wassermann, lorsqu'on doit soumettre à ces épreuves des sérums anticomplémentaires. Nous voudrions avoir pu ainsi faciliter la tâche des sérologistes et nous espérons avoir pu apporter quelque aide aux chercheurs qui poursuivent l'étude d'un des chapitres les plus obscurs de la sérologie.

La découverte du pouvoir anticomplémentaire des sérums qui ont été chauffés est sans doute due à Gley et Camus : ils signalèrent, en effet, en 1901, que si l'on

chauffait à 56° le sérum d'Anguille, il acquérait la propriété d'exercer une action antagoniste à l'égard des hémolysines. Gley et Camus indiquaient, en outre, que des sérums, autres que celui de l'Anguille, acquéraient aussi, après avoir été soumis à l'action de la chaleur, le même pouvoir empêchant.

Peu de temps après la publication des travaux de Gley et Camus, P. Th. Müller (1901) constatait à son tour que le sérum des animaux normaux, chauffé à 54° devenait anticomplémentaire (1).

En 1902, Ehrlich et Sachs rendaient anticomplémentaires les sérums de Chien et de Bœuf, en les chauffant à 60°. En 1906, Pfeiffer et Friedberger démontraient que le sérum de Lapin acquérait le pouvoir anticomplémentaire après chauffage à 56°. A ces travaux s'ajoutèrent bientôt ceux de Manwaring (1906) sur le sérum de Chèvre, ceux de Noguchi (1906) sur le sérum humain, ceux de Rossi (1909), puis de Karsner et Pearce (1912) sur le sérum de Chien, enfin les études de Kolmer et de ses collaborateurs (1913-1916) sur le sérum du Lapin et sur celui du Chien. Il fut ainsi établi que les températures comprises entre 53 et 60° peuvent rendre anticomplémentaires les sérums normaux.

En 1910, Noguchi démontra que le chauffage n'était pas le seul facteur qui pouvait rendre les sérums anticomplémentaires et constata que les sérums humains, soumis à l'action du vieillissement, acquéraient graduellement le pouvoir anticomplémentaire. Il observa, en outre, que les sérums, devenus anticomplémentaires par vieillissement, perdaient leur pouvoir anticomplémentaire s'ils étaient chauffés à 54°. La découverte de Noguchi fut confirmée par les travaux de Zinsser et Johnson qui, en 1911, exami-

(1) Nous emploierons les termes de « sérum anticomplémentaire », de « pouvoir anticomplémentaire », quoique les auteurs dont nous citons les travaux aient le plus souvent employé les termes de « sérum antihémolytique » et de « pouvoir antihémolytique », de « sérum antilytique » et de « pouvoir antilytique ».

nèrent à nouveau les conditions dans lesquelles les sérums humains devenaient anticomplémentaires et étudièrent l'action que la chaleur exerçait sur le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

Dès 1901, Müller avait signalé l'existence du pouvoir anticomplémentaire dans des sérums frais — sérums de Lapins ou sérum de Cobaye — qui n'avaient subi ni l'action de la chaleur, ni celle du vieillissement : le pouvoir anticomplémentaire naturel était donc dès ce moment découvert.

Dès que l'on eût pu constater l'existence du pouvoir anticomplémentaire des sérums normaux, on essaya d'en préciser la nature et d'en connaître l'origine. Pour Müller, il existerait dans tous les sérums frais une substance antihémolytique qui ne pourrait y être décelée, en raison de sa combinaison avec l'alexine : lorsqu'on chauffe les sérums, on détruirait leur alexine et on libérerait leur antihémolytine. Pour Neisser et Friedmann (1902), la chaleur provoquerait l'apparition dans les sérums d'un « amboceptoïde » qui serait capable de fixer l'alexine. Pour Ehrlich (1905), lorsque l'on soumet les sérums à l'action de la chaleur, on provoquerait une dissociation des propriétés de leur alexine qui conserverait ses propriétés haptophoriques, tout en perdant ses propriétés zymotoxiques : l'alexine se transformerait ainsi en un « complémentotoïde » qui donnerait aux sérums chauffés leur propriété antihémolytique. Les travaux de Müller, Neisser et Friedmann, Ehrlich, Sachs attribuaient en réalité, l'action antihémolytique des sérums à une substance qui y aurait déjà existé avant qu'ils fussent chauffés ou qui s'y serait formée sous l'action de la chaleur. Noguchi, en 1906, s'efforça d'isoler cette substance et pensa y être parvenu. Zinsser et Johnson, à leur tour, en 1911, tentèrent d'extraire la substance antihémolytique des sérums humains traités par le vieillissement : ils crurent qu'elle était contenue dans les globulines

du sérum, tandis que Noguchi avait pensé que sa « protectine » était un lipoïde. Mais en 1916, Kolmer reprit les travaux de Noguchi et ceux de Zinsser et Johnson, les soumit à un contrôle expérimental rigoureux et prouva que leurs conclusions ne pouvaient être admises : dès lors on reconnut qu'il était impossible d'attribuer le pouvoir des sérums chauffés ou vieillis à l'existence d'une substance spécifique et isolable qui y serait contenue.

L'orientation des travaux de Bordet fut bien différente. En 1908, dans un mémoire sur « l'absorption de l'alexine et sur le pouvoir antagoniste des sérums normaux », il avait, avec Parker Gay, soutenu, par de nombreuses recherches expérimentales, une opinion qui s'éloignait de celles de Müller, de Neisser et Friedmann, d'Ehrlich, mais qui se rapprochait de l'opinion de Muir et Browning. Le sérum normal posséderait une influence antagoniste et inhiberait l'hémolyse. Il n'agirait pas en supprimant la sensibilisation des globules rouges contenus dans les systèmes hémolytiques, il n'agirait pas directement sur ces globules rouges pour les rendre réfractaires à l'hémolyse : il s'opposerait à la fixation de l'alexine sur les globules rouges. Bordet et Parker Gay établissaient, en outre, que l'action antagoniste du sérum normal devenait moins évidente lorsque les globules rouges étaient plus fortement sensibilisés et qu'elle était, au contraire, d'autant plus accusée que, dans une réaction d'hémolyse, on introduisait plus de sérum et moins d'eau physiologique. Ces deux derniers faits devaient conduire ultérieurement les sérologistes à modifier la technique des réactions de Bordet-Gengou et de Bordet-Wassermann de manière à pouvoir obtenir des réactions de fixation du complément qui fussent spécifiques, même lorsqu'ils employaient des sérums possédant le pouvoir anticomplémentaire.

L'étude des variations du pouvoir anticomplémentaire a commencé dès 1901 et se poursuit encore. On s'attacha tout

d'abord à établir les relations qui paraissaient unir les états pathologiques au développement du pouvoir anticomplémentaire du sérum. En 1901, Neisser et Döring constatèrent que le sérum des urémiques chauffé à 56° devenait anticomplémentaire. Mais les travaux de Laquer (1901), de Neisser et Friedmann (1902), de Senator (1904), de Bergmann et Künthe (1906), de Zinsser et Johnson (1911), prouvèrent que, si le sérum des sujets atteints de néphrite chronique pouvait devenir fortement anticomplémentaire après avoir été chauffé, il ne le devenait pas toujours. Il fut, en outre, démontré que le chauffage développait le pouvoir anticomplémentaire dans le sérum de malades qui n'étaient pas atteints de lésions rénales. On sut, enfin, que le sérum des sujets normaux devenait anticomplémentaire après avoir subi l'action de la chaleur : on crut ainsi, à tort, que les relations entre le pouvoir anticomplémentaire et les états morbides perdaient tout intérêt.

Les variations « physiologiques » du pouvoir anticomplémentaire paraissent avoir été étudiées pour la première fois en 1916, par Kolmer et ses collaborateurs. Ils montrèrent que le pouvoir anticomplémentaire était modifié par la digestion et prouvèrent que certains aliments, tels que les lipoides, augmentaient le taux anticomplémentaire du sérum. Tello, puis Bruni (1934) reprirent l'étude de la même question et suivirent heure par heure les modifications que subit le pouvoir anticomplémentaire chez les animaux au cours de la période digestive. Ils entreprirent, en outre, une série d'expériences aussi importantes sur l'action exercée par le jeûne temporaire ou prolongé.

L'action qu'exercent les agents thérapeutiques sur les variations du pouvoir anticomplémentaire fut examinée par Kolmer et Pearce (1916), par Tallo, par Gentile (1934) — action des anesthésiques, en particulier de l'éther et du chloroforme —, par Emanuel (1911), par Kolmer et Trist (1916) — action du Salvarsan —, par Epstein et Pribram

(1909), par Kolmer et Trist (1916) — action des sels de mercure —, par La Grutta (1934) — action de l'argent et du soufre colloïdaux —, par La Grutta (1934) — action des injections intraveineuses de sérums hétérologues.

Dès 1916, on essaya de découvrir des procédés qui fussent capables de faire disparaître le pouvoir anticomplémentaire des sérums. Kolmer, Trist et Heist (1916), dont les travaux furent suivis de ceux de Kyutoku (1919), tentèrent de débarrasser les sérums de leur pouvoir anticomplémentaire en les filtrant sur filtre Kitasato, neuf, propre et stérile, après les avoir dilués à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique. En 1919, Kyutoku essaya de supprimer leur pouvoir anticomplémentaire en traitant les sérums par des poudres inertes — sulfate de baryum, noir animal, charbon végétal, kaolin. Aucune de ces méthodes ne pouvant permettre de priver complètement les sérums de leur pouvoir anticomplémentaire, les sérologistes s'efforcèrent de modifier la technique des épreuves fondées sur la fixation du complément, afin d'éviter les erreurs que pouvait causer le pouvoir anticomplémentaire des sérums : ainsi furent imaginés les procédés recommandés par Kolmer et Trist en 1916 et ceux qui, préconisés dans ces dernières années par Rubinstein et par Demanche, ont été généralement adoptés en France comme les meilleurs dont on pût disposer.

*
* *

Il y a plus de deux ans, le Professeur Nattan-Larrier nous conseillait de consacrer notre thèse à l'étude du pouvoir anticomplémentaire du sérum, et mettait à notre disposition, pour poursuivre nos recherches, toutes les ressources de son laboratoire du Collège de France. M. le Professeur Bordet, auquel nous adressons nos profonds remerciements, prit la peine de nous montrer l'intérêt de

la question que nous appréhendions de traiter et nous indiqua quelques-unes des expériences qu'il nous faudrait poursuivre. Nous hésitions, pourtant, encore à entreprendre l'étude d'un problème aussi complexe et nous en fîmes l'aveu à M. le Professeur Fabre. Avec une extrême bienveillance, il nous encouragea, nous guida, compléta le plan de notre travail, insista enfin pour nous faire tirer de nos conclusions les applications pratiques qui pouvaient en découler. Nous ne saurions assez lui témoigner notre reconnaissance pour l'aide qu'il nous a ainsi apportée et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de notre thèse.

Le Professeur Nattan-Larrier, pendant l'élaboration de ce travail nous a proposé le sujet de nombreuses recherches, nous a indiqué les techniques que nous devons suivre, a soumis les résultats que nous obtenions à une critique attentive, nous a fait apprécier les conséquences des conclusions auxquelles nous parvenions : il a été pour nous un maître dont nous n'oublierons pas le dévouement affectueux.

Nous voulons enfin exprimer notre vive gratitude aux collaborateurs du Professeur Nattan-Larrier qui sont devenus les nôtres, et, d'une façon plus grande encore, à Mme Grimard-Steeg, assistante au Collège de France.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

LA RECHERCHE

DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DES SÉRUMS

Le procédé qui permet la recherche du pouvoir anticomplémentaire des sérums est fondé sur la propriété de fixer l'alexine que possèdent les sérums anticomplémentaires. Un sérum sera considéré comme anticomplémentaire lorsque, mis en présence d'une quantité déterminée d'alexine, puis d'un système hémolytique, il empêchera la dissolution des hématies qui se serait produite si l'action de l'alexine n'avait pas été entravée.

Pour doser le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum, on pourra soit faire varier la quantité de ce sérum mise en présence d'une quantité fixe d'alexine, soit faire varier la quantité d'alexine mise en présence d'une quantité fixe de sérum. Le premier procédé correspond à la technique habituelle des réactions de fixation de l'alexine par la méthode de Bordet-Gengou, le deuxième procédé répond à la méthode de Calmette et Massol pour la recherche de la fixation de l'alexine. Quelle que soit celle de ces méthodes que l'on choisira, on emploiera pour déceler la fixa-

tion de l'alexine un système hémolytique — de préférence le système globules rouges de Mouton et sérum antimouton — : l'hémolyse ne se produira que dans les tubes où l'alexine n'aura pas été fixée par le sérum anticomplémentaire.

Le procédé, employé pour tous les dosages qui seront cités dans cette thèse, est fondé sur l'emploi de quantités variables de sérum, mises en présence de quantités fixes d'alexine.

Dosage du pouvoir anticomplémentaire

PROCÉDÉ HABITUEL ET ÉVALUATION DU TAUX ANTICOMPLÉMENTAIRE.— On place dans un porte-tube une série de tubes à hémolyse dans lesquels on introduit 0 cc. 1 du sérum pur ou dilué que l'on veut examiner. Le premier tube reçoit le sérum pur, les tubes suivants reçoivent ce même sérum dilué à 1 p. 2, 1 p. 4, 1 p. 8, 1 p. 10, 1 p. 16, 1 p. 20, 1 p. 32, 1 p. 40, 1 p. 64, 1 p. 80. On ajoute dans chacun des tubes 0 cc. 2 d'eau physiologique, puis 0 cc. 1 d'alexine au taux du jour. On prépare, en outre, un tube témoin qui contient seulement 0 cc. 1 d'alexine au taux du jour et 0 cc. 3 d'eau physiologique. Les tubes ainsi préparés, après avoir été rapidement secoués, sont mis à l'étuve à 37° où on les laisse 1 h. 1/2. Au bout de ce temps, les tubes sont retirés de l'étuve et l'on ajoute dans chacun d'eux le système hémolytique — à savoir 0 cc. 1 de globules rouges de Mouton à 5 p. 100 et 0 cc. 1 d'un sérum antimouton dilué de telle façon que, employé dans cette proportion, il puisse permettre l'hémolyse complète des globules rouges de Mouton dans tous les tubes où l'alexine n'a pas été fixée par le pouvoir anticomplémentaire du sérum soumis à l'examen. L'expérience étant ainsi disposée, le porte-tubes est secoué à nouveau, puis est remis à l'étuve à 37° où il est laissé une demi-heure. Au bout de ce temps, on lit les résultats.

Dispositif d'une expérience de dosage du P. A. C.

Tubes N° :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Sérum dilué à											
	Sérum pur	1/2	1/4	1/8	1/10	1/16	1/20	1/32	1/40	1/64	1/80	
Sérum	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	...
H ² O phys. . . .	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
Alexine.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
G. R. Mouton . .	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sérum anti-mouton. . .	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Dans le tube-témoin, l'hémolyse doit être complète. Si le sérum examiné est anticomplémentaire, il empêche, au contraire l'hémolyse dans tous les tubes où il se trouve en quantité suffisante : dans le fond de ces tubes se sont rassemblées les hématies de Mouton, au-dessus desquelles se voit un liquide incolore et transparent. Dans les tubes où le sérum anticomplémentaire est en quantité trop faible pour empêcher complètement l'hémolyse, mais est en quantité suffisante pour qu'une partie des globules rouges soit dissoute, une hémolyse partielle s'est produite : dans le fond des tubes, se sont rassemblées en quantité variable des hématies de Mouton au-dessus desquelles se voit un liquide plus ou moins rouge et plus ou moins transparent. Enfin, dans les tubes où la quantité du sérum anticomplémentaire est insuffisante pour empêcher l'hémolyse de se produire, tous les globules rouges se sont dissous comme dans le tube-témoin : aucun dépôt d'hématies ne s'est formé dans le fond de ces tubes qui sont remplis en totalité par un liquide rouge vif et transparent. Si l'on agite le porte-tubes, le contenu du tube-témoin et celui des tubes dans lesquels s'est faite l'hémolyse totale ne se trouble pas ; le contenu des tubes où s'est faite l'hémolyse partielle présente un certain degré d'opacité ; le contenu des tubes où

aucune hémolyse ne s'est produite devient franchement opaque (1).

On dira que le sérum examiné n'est pas anticomplémentaire si l'hémolyse s'est faite dans tous les tubes. On dira que le pouvoir anticomplémentaire est faible si l'hémolyse ne s'est produite que dans le premier tube qui contient le sérum pur. On dira que le pouvoir anticomplémentaire est moyen si l'hémolyse ne s'est pas produite dans les deux premiers tubes (sérum pur et sérum dilué à 1 p. 2). On dira que le pouvoir anticomplémentaire est fort, très fort ou intense, si l'hémolyse a été empêchée dans les trois premiers tubes, dans les quatre premiers tubes, dans les cinq premiers tubes, etc. Pour plus de précision, on pourra désigner le taux du pouvoir anticomplémentaire en indiquant le taux de la dilution du sérum dans le dernier tube où l'absence d'hémolyse a été constaté. Le taux du pouvoir anticomplémentaire sera ainsi de 1/1 — si l'hémolyse n'est absente que dans le premier tube contenant le sérum pur, de 1/2 — si l'hémolyse est absente dans le premier et le deuxième tube contenant l'un le sérum pur, l'autre le sérum dilué à 1 p. 2 —, de 1/80 — si l'hémolyse est absente dans tous les tubes. Cette façon d'évaluer le taux du pouvoir anticomplémentaire ne tient pas compte des actions anticomplémentaires légères qui permettent une hémolyse partielle et incomplète; ces taux inférieurs à 1/1 seront désignés comme correspondant à des traces ou à des traces légères du pouvoir anticomplémentaire.

Les sérums anticomplémentaires peuvent empêcher totalement l'hémolyse dans les tubes où ils sont peu dilués et l'empêcher partiellement dans les tubes où ils sont plus fortement dilués; ils peuvent empêcher totalement l'hémo-

(1) Les hématies de Mouton sont agglutinées dans les tubes où le pouvoir anticomplémentaire a empêché l'hémolyse de se produire. Il n'est pas rare de voir dans les tubes où le sérum anticomplémentaire est en forte quantité, les hématies rassemblées en amas volumineux que l'agitation ne peut plus remettre en suspension.

AUTRES PROCÉDÉS. — Les procédés de Zinsser et Johnson, de Kyutoku, de La Grutta ne diffèrent pas sensiblement de celui que nous venons de décrire : si l'on emploie la technique de Zinsser et Johnson, on fait varier les quantités de sérum, tandis que l'on fait varier les quantités d'alexine si l'on adopte la technique préconisée par La Grutta. Le procédé de Kolmer est, au contraire, très différent de ceux des autres sérologistes.

Procédé de Zinsser et Johnson (1911). — Pour rechercher le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum, Zinsser et Johnson ajoutent à 0 cc. 2 du sérum qu'ils veulent examiner 0 cc. 1 d'alexine de Cobaye, puis portent le volume à 3 cc. par addition d'eau physiologique. Le mélange est laissé au bain-marie à 40° pendant 30 minutes. On ajoute alors 1 cc. d'une émulsion à 5 p. 100 de globules rouges de Mouton que l'on sensibilise avec 2 unités d'hémolysine antimouton et on porte le volume total à 5 cc. Pour titrer le pouvoir anticomplémentaire, on prépare une série de 10 tubes qui reçoivent des quantités décroissantes du sérum à examiner — 0 cc. 2, 0 cc. 1, 0 cc. 05, 0 cc. 04, 0 cc. 03, 0 cc. 02, 0 cc. 01, 0 cc. 005, 0 cc. 0025, 0 cc. 00125. On ajoute 0 cc. 1 d'alexine de Cobaye et l'on porte dans chaque tube le volume à 3 cc. par addition d'eau physiologique. Le reste de l'expérience est disposé et conduit comme il a été indiqué ci-dessus. Le dernier tube où l'hémolyse a été empêchée indique le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum.

Procédé de Kyutoku (1919). — Une série de tubes reçoivent des quantités décroissantes du sérum à examiner et une quantité constante d'alexine — par exemple 1 cc. d'une dilution à 1 p. 20 de sérum de Cobaye. On ramène le volume dans tous les tubes à 2 cc. par adjonction d'eau physiologique. Le mélange est laissé au bain-marie à 38° pendant une heure; on ajoute alors dans chaque tube 1 cc.

d'une suspension à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton et 2 unités d'hémolysine antimouton. On laisse au bain-marie pendant une heure, puis à la glacière à + 2° pendant la nuit.

Procédé de La Grutta (1934). — On prépare deux séries de tubes à hémolyse. Dans la première série, les tubes reçoivent des quantités croissantes de sérum frais de Cobaye dilué à 1 p. 10 par adjonction d'eau physiologique à 8,5 p. 1000 — 1^{er} tube, 0,10; 2^e tube, 0,20; 3^e tube, 0,30; 4^e tube, 0,40 — et l'on complète avec de l'eau physiologique pour obtenir un volume de 1 cc. 5. Dans la deuxième série, chacun des tubes reçoit une quantité de sérum frais dilué de Cobaye, identique à celle reçue par le tube correspondant de la 1^{re} série. Mais tous les tubes de cette seconde reçoivent en outre 0 cc. 5 du sérum à examiner chauffé à 56° pendant 30 minutes et dilué à 1 p. 5; on complète par de l'eau physiologique pour ramener le volume à 1 cc. 5. Les deux séries de tubes sont placées à l'étuve à 37° pendant une heure. On ajoute alors à tous les tubes des deux séries le système hémolytique — à savoir 0 cc. 5 d'hématies de Bœuf à 20 p. 100 et 0 cc. 5 d'hémolysine antibœuf diluée de telle façon que chaque centimètre cube contienne une unité hémolytique. La lecture des résultats se fait après un séjour de une heure à l'étuve. La première série des tubes donne le titre de l'alexine employée et, par comparaison avec la deuxième série de tubes, on peut connaître le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum qui a été examiné. On exprimera son activité en unités de complément. L'unité complémentaire correspond à la quantité minimum d'alexine qui suffit pour déterminer l'hémolyse complète des hématies de Bœuf.

Procédé de Kolmer et Trist. — Kolmer et Trist, pour déceler et doser le pouvoir anticomplémentaire du sérum ont recours à une véritable réaction de Wassermann, dans laquelle le sérum supposé anticomplémentaire est substitué

au sérum supposé syphilitique (1). Dans un premier temps de l'examen, on met à l'étuve pendant une heure le mélange de sérum, d'alexine et d'antigène. Dans un deuxième temps, on ajoute le système hémolytique; on replace les tubes à l'étuve et on lit les résultats au bout d'une heure. Les antigènes employés sont des extraits lipoïdaux — extrait alcoolique de myocarde de Bœuf renforcé par la cholestérine, extrait alcoolique de foie syphilitique, extrait de lipoïdes de myocarde de Bœuf insolubles dans l'acétone. On emploie, d'autre part, des antigènes bactériens à staphylocoques, à *Bacterium coli* humain, à bacille typhiques. Ces divers antigènes sont dosés suivant la méthode de Kolmer. L'alexine dans toutes les réactions est représentée par 1 cc. d'une dilution à 1 p. 20 en eau physiologique de sérum de Cobayes, soit une quantité correspondant à 0 cc. 05 de sérum non dilué. L'hémolysine antimouton est titrée tous les jours en présence de la dose d'alexine qui vient d'être indiquée et de 1 cc. d'une émulsion à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton : on emploie dans les réactions 2 unités hémolytiques (2).

Conditions de la recherche du pouvoir anticomplémentaire

RÉCOLTE DES SÉRUMS. — Le sérum destiné à la recherche et au dosage du pouvoir anticomplémentaire doit être récolté

(1) Kolmer et Trist ont également employé une méthode qui ne diffère guère de celles décrites plus haut. Un mélange de sérum et d'alexine était mis à l'étuve pendant une heure. Puis on ajoutait, le système hémolytique — globules rouges de Mouton et 2 unités de sérum antimouton. On lisait les résultats après avoir laissé les tubes pendant une heure à l'étuve et pendant une nuit à la glacière.

(2) Kolmer et Trist ont insisté sur l'importance des doses d'alexine et d'hémolysine que l'on emploie dans leur réaction. L'emploi de la dose indiquée d'alexine avec une unité hémolytique seulement augmente le pourcentage des réactions de fixation du complément que l'on obtient. Au contraire un excès au-delà des proportions indiquées, soit d'alexine, soit d'hémolysine, soit des deux, tend à diminuer le pourcentage des réactions positives.

aseptiquement. Chez l'Homme, le sang est obtenu par ponction d'une veine du pli du coude; mais chez le nouveau-né, on doit recueillir le sang qui s'écoule au moment de la section du cordon. On ponctionne chez le Chien une veine de la patte, chez le Lapin la veine marginale de l'oreille; chez le Cobaye, on prélève le sang de la carotide; mais on peut aussi chez le Lapin et chez le Cobaye ponctionner le cœur. Lorsque l'on dispose d'une quantité de sang suffisante, on laisse la coagulation se faire dans un tube stérilisé soit à la température du laboratoire, soit de préférence à la glacière; dès que le caillot s'est formé, on décante le sérum — que l'on centrifuge, s'il contient des globules rouges. Lorsque le sang provient d'un petit animal et ne peut être obtenu qu'en faible quantité, on le verse ou on le laisse s'écouler dans un verre stérilisé où on le défibrine aussitôt en le battant avec une baguette de verre; puis le sang défibriné est centrifugé et on décante le liquide superficiel débarrassé des globules rouges (1).

TITRAGE DU SÉRUM ANTIMOUTON. — Le titre hémolytique du sérum antimouton que prépare le commerce, doit être vérifié. Pour éviter de répéter la vérification avant chaque recherche et pour obtenir des résultats toujours comparables entre eux, on réunit le contenu de toutes les ampoules dont on dispose; on dose le pouvoir hémolytique du mélange; puis on répartit le sérum antimouton dans des ampoules que l'on scelle et que l'on emploie au fur et à mesure des besoins.

RECHERCHE ET ÉLIMINATION DE L'HÉMOLYSINE NATURELLE ANTIMOUTON. — Sauf lorsqu'il provient d'un nou-

(1) Le sérum que l'on obtient en défibrinant, puis en centrifugeant le sang est teinté par l'hémoglobine; mais comme la quantité d'hémoglobine est faible, le dosage n'est pas faussé et la lecture des résultats n'est pas rendue plus difficile.

veau-né, le sérum humain contient d'une façon presque constante une hémolysine naturelle antimouton (1), qui peut être une cause d'erreur dans le dosage du pouvoir anticomplémentaire. Cette hémolysine disparaît assez rapidement dans les sérums conservés à la glacière à $+5^{\circ}$, on n'aura donc pas à s'en occuper le plus souvent, lorsque l'on étudiera le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Mais l'hémolysine antimouton ne disparaît pas d'une façon aussi constante dans les sérums chauffés : elle n'y persiste pas, il est vrai, après chauffage à $60-62^{\circ}$, mais le chauffage à $54-55^{\circ}$ ne la détruit pas et le chauffage à $56-57^{\circ}$ ne la détruit que si elle n'existe pas en trop grande quantité. On doit donc rechercher l'hémolysine antimouton dans les sérums humains que l'on veut examiner et on doit savoir provoquer sa disparition.

La recherche de l'hémolysine antimouton est facile : l'expérience peut être disposée comme pour une recherche du pouvoir anticomplémentaire, mais on n'introduit dans la série des tubes ni alexine — puisque le sérum humain employé à l'état frais en contient —, ni sérum antimouton — puisque l'on désire savoir si le sérum humain ne contient pas à l'état naturel l'hémolysine antimouton; on ajoute, enfin dans chaque tube 0 cc. 4 d'eau physiologique (2).

Pour neutraliser l'hémolysine antimouton, on mélange à 4 cc. de sérum humain — inactivé par chauffage à 49° pendant 30 minutes — 1 cc. de la suspension à 5 p. 100 de globules rouges de Mouton et on laisse ce mélange pendant 1 h. $1/2$ à l'étuve à 37° , puis pendant 18 heures au frigidaire à $+5^{\circ}$.

(1) Le sérum de Cobaye ne contient pas d'hémolysine antimouton, mais cette hémolysine naturelle peut exister dans le sérum du Lapin. D'après Kolmer et Williams et d'après Kolmer et Trist, 36 p. 100 des sérums de Lapin contiennent de l'hémolysine antimouton. Une forte proportion des sérums de Chien en contient également.

(2) On obtient un dosage plus exact en inactivant le sérum humain à 49° , température qui fait disparaître l'alexine sans développer le pouvoir anticomplémentaire, puis en ajoutant dans chaque tube la quantité voulue d'alexine de Cobaye dosée au taux du jour.

PRÉCAUTIONS A PRENDRE POUR LE NETTOYAGE DE LA VERRERIE. — Le nettoyage de la verrerie qui servira à la recherche et au dosage du pouvoir anticomplémentaire doit être fait avec le plus grand soin, car toute négligence de nettoyage peut fausser les résultats des réactions.

Causes d'erreur

ERREURS DUES AUX PRODUITS DE DÉSINTÉGRATION DES GLOBULES ROUGES. — Les sérums qui ont été décantés après décollement trop hâtif du caillot ou qui ont été obtenus par défibrination du sang soumis au battage, sont très souvent colorés en un rouge plus ou moins vif par l'hémoglobine. Les produits de désintégration des hématies que contiennent ces sérums peuvent-ils y avoir introduit des substances anticomplémentaires? Les travaux de M. le Professeur Fabre ont démontré que la dissolution des globules rouges met en liberté du cholestérol qui possède la propriété d'empêcher l'hémolyse. Un sérum, possédant une teinte d'un rouge foncé qui correspondrait à la destruction de nombreuses hématies, pourrait donc empêcher l'hémolyse sans posséder le pouvoir anticomplémentaire. En fait, les recherches de Kyutoku ont prouvé que les sérums qui contiennent seulement des traces d'hémoglobine n'ont pas acquis la propriété d'empêcher l'hémolyse : les sérums doivent contenir de 20 à 25 p. 100 d'hémoglobine pour pouvoir exercer une action antilytique appréciable. Recueillis suivant les méthodes habituelles, les sérums ne sont jamais aussi riches en hémoglobine (1).

(1) Le matériel employé pour prélever le sang — seringues, aiguilles, bistouris, ciseaux, etc. — ne doit jamais être bouilli ou stérilisé à l'autoclave, mais doit être stérilisé au four Pasteur ; on évite ainsi l'usage d'un matériel humide qui pourrait déterminer la dissolution des globules rouges.

Notons, d'ailleurs, que Kyutoku pour obtenir des sérums humains possédant le pouvoir antilytique ne les décantait pas et les laissait au contact du caillot soit pendant 8 jours à l'étuve à 37°5, soit pendant 10 jours à la température de la chambre (1).

ERREURS DUES AUX CONTAMINATIONS MICROBIENNES. — Lorsque le sang n'a pas été recueilli aseptiquement, lorsque les sérums n'ont pas été décantés avec les précautions nécessaires, lorsque le matériel employé a été insuffisamment stérilisé, lorsque les sérums ont été conservés en ampoules mal fermées, des contaminations microbiennes peuvent souiller les sérums. Ces contaminations sont encore plus fréquentes lorsque le sang a été défibriné par battage, puis centrifugé pour obtenir le sérum (2). Comme les sérums sont de bons milieux de culture, les bactéries qui y ont été introduites par une faute de technique, prolifèrent rapidement à la température du laboratoire; si même les sérums sont conservés à +5°, des levures et des moisissures peuvent encore s'y développer. Or les recherches de C. F. Craig (1911) et celles de T. Kyutoku (1919) ont démontré que les bactéries sont capables d'exercer une action anticomplémentaire. Les sérums humainsensemencés avec le staphylocoque blanc, le *Bacterium coli*, le bacille d'Eberth et surtout avec le *Bacillus subtilis*, deviennent anticomplémentaires; leur pouvoir anticomplémentaire disparaît lorsqu'ils sont filtrés sur bougie; il n'est dû ni aux substances élaborées par les microbes, ni à leur action sur le sérum; c'est un pouvoir anticomplémentaire d'em-

(1) Les sérums humains, conservés pendant 8 jours à 37°5 ou pendant 10 jours à 22°, peuvent, d'ailleurs avoir acquis par vieillissement le pouvoir anticomplémentaire.

(2) Le sang destiné à être défibriné doit être recueilli dans un verre stérilisé. On doit employer des baguettes de verre stérilisées pour le battre. On doit pendant le battage remettre sur le verre le papier qui le recouvrait au moment de la stérilisation; ce papier sera perforé pour permettre le passage de la baguette de verre.

prunt en relation avec la présence des corps microbiens dans les sérums contaminés.

Conclusions

1. — On peut déceler le pouvoir anticomplémentaire des sérums en faisant agir sur une quantité fixe d'alexine de Cobaye des quantités variables de sérum suspect. En ajoutant dans un deuxième temps de l'expérience des globules rouges de Mouton et du sérum hémolytique antimouton, on peut savoir dans quels tubes le sérum anticomplémentaire existe en quantité suffisante pour fixer en totalité l'alexine et empêcher l'hémolyse.

2. — La méthode n'est valable que si on dose exactement l'alexine de Cobaye employée, si on inactive le sérum suspect, si on fait disparaître l'hémolysine naturelle de ce sérum, si on soumet à un dosage rigoureux l'hémolysine antimouton.

3. — On devra se souvenir que les sérums, mal recueillis, qui contiennent une forte proportion d'hémoglobine due à la dissolution des globules rouges et les sérums qui ont subi des contaminations microbiennes peuvent empêcher l'hémolyse des hématies de Mouton sans posséder en réalité le pouvoir anticomplémentaire.

CHAPITRE II

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE CHEZ L'HOMME ET DANS QUELQUES ESPÈCES ANIMALES

Le sérum peut devenir anticomplémentaire soit lorsqu'il est chauffé à 54-62°, soit lorsqu'il est conservé à 37°, à 22°, ou à basse température : ainsi les deux procédés, que l'on emploie habituellement pour inactiver les sérums, sont, tous deux, susceptibles de développer leur pouvoir anticomplémentaire. Le pouvoir anticomplémentaire dont l'apparition a pour condition le chauffage du sérum et le pouvoir anticomplémentaire que fait apparaître le vieillissement ne peuvent être confondus : le premier, en effet, est thermostable, tandis que le second est thermolabile. Les sérums qui n'ont été ni chauffés ni vieillis peuvent, enfin, être aussi anticomplémentaires : ils possèdent alors un « pouvoir anticomplémentaire naturel », qui, comme le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ne résiste pas à l'action de la chaleur.

De nombreux auteurs ont recherché le pouvoir anticomplémentaire de chauffage, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement et le pouvoir anticomplémentaire naturel dans le sérum humain ou dans les sérums des animaux. Nous rappellerons brièvement les conclusions de ces travaux.

Le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement du sérum humain paraît avoir été signalé pour la première

fois par Noguchi dans son ouvrage sur le séro-diagnostic de la syphilis. Il put établir que le sérum humain devient graduellement anticomplémentaire lorsqu'il est conservé à la température de la chambre ou à la glacière et il nota que le pouvoir anticomplémentaire ainsi acquis disparaissait sous l'action du chauffage. En 1911, Zinsser et Johnson reprirent l'étude de la question : ils montrèrent qu'à $+10^{\circ}$ le sérum peut parfois devenir anticomplémentaire en 5 jours, mais qu'il n'acquiert le plus souvent son pouvoir anticomplémentaire qu'après avoir été soumis au vieillissement pendant une quinzaine de jours. Zinsser et Johnson notèrent, toutefois, que certains sérums n'étaient pas encore anticomplémentaires après avoir été maintenus à la glacière pendant 4 à 5 semaines. En 1919, Kyutoku fit des constatations analogues et précisa les conditions dans lesquelles le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement est détruit par la chaleur; il affirma que le sérum humain, contrairement aux sérums de Lapin, de Chien et de Mule, ne devenait pas anticomplémentaire lorsqu'il était chauffé. Ainsi tendait à s'établir une notion erronée : le vieillissement aurait seul été capable de développer le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain. En réalité, au contraire, le chauffage peut aussi bien rendre anticomplémentaire le sérum humain que le sérum des animaux, et, même sans avoir été soumis ni à l'action du vieillissement, ni à l'action du chauffage, certains sérums humains peuvent être anticomplémentaires.

Les propriétés anticomplémentaires du sérum de Chien paraissent avoir été étudiées pour la première fois par Ehrlich (1902), puis le furent par Sachs, qui, en 1905, nota que ce sérum, chauffé à 60° , devenait anticomplémentaire, tandis qu'il ne le devenait pas s'il était chauffé à 50° . Peu après, Noguchi (1906) signala que le pouvoir anticomplémentaire pouvait encore apparaître dans le sérum de Chien lorsqu'il était chauffé à des températures comprises entre 60° et 70° . Pour Kolmer et Trist (1906),

des traces de pouvoir anticomplémentaire pouvaient déjà apparaître à 45°; mais la température qui favorisait le mieux le développement du pouvoir anticomplémentaire du sérum de Chien était comprise entre 55 et 56°; le chauffage devait être prolongé pendant 20 à 30 minutes et n'exerçait pas une action plus marquée si on le maintenait pendant une heure et demie; le chauffage à 70° faisait enfin disparaître le pouvoir anticomplémentaire en 30 minutes. Pour Kolmer et Trist, le sérum frais de Chien pouvait posséder un pouvoir anticomplémentaire naturel dont ils cherchèrent à évaluer le taux.

Pfeiffer et Friedberger constatèrent, en 1906, que le sérum de Lapin lorsqu'il avait été chauffé à 56° devenait anticomplémentaire. Mais le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Lapin fut surtout étudié par Kolmer et Trist (1916). D'après ces auteurs, le sérum du Lapin, chauffé à 55-56° pendant 30 minutes, acquérait plus rarement le pouvoir anticomplémentaire que le sérum du Chien soumis à la même température : le chauffage, en effet, ne rendait anticomplémentaire que 38 à 49 p. 100 des sérums de Lapin. Quant au taux anticomplémentaire du sérum de Lapin, il était léger ou moyen et restait toujours beaucoup plus faible que celui du sérum de Chien. Le sérum du Lapin, pour Kolmer et Trist, possédait rarement le pouvoir anticomplémentaire naturel.

Le pouvoir anticomplémentaire des sérums de Mouton et de Bœuf fut étudié par Noguchi (1906) qui constata que le sérum de Bœuf devenait quelquefois anticomplémentaire après avoir été chauffé à 50°, mais le devenait presque toujours s'il était soumis au chauffage à 60°.

Les travaux originaux, dont les conclusions seront analysées dans ce chapitre, ont concerné les pouvoirs anticomplémentaires du sérum humain et des sérums de Cobaye et de Cheval. Nous donnerons, en outre, quelques indications sur le sérum de la Poule.

Le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain

Le sérum humain peut acquérir le pouvoir anticomplémentaire, soit lorsqu'il est soumis à l'action de la chaleur et chauffé entre 54 et 62°, soit lorsqu'il est soumis à l'action du vieillissement. Enfin le sérum humain dans quelques cas possède le pouvoir anticomplémentaire naturel.

Nous avons toujours recueilli le sang et récolté le sérum en employant les mêmes techniques. Le sang était obtenu par ponction d'une des veines du pli du coude, sauf lorsque la saignée était faite sur un nouveau-né; dans ce cas le sang était recueilli au moment de la section du cordon. On laissait le sang se coaguler soit à la température du laboratoire, soit à +5°. On prélevait enfin le sérum dès que le caillot s'était rétracté.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DE LA CHALEUR. — Les sérums furent examinés le plus souvent 24 heures et toujours moins de 40 heures après la récolte du sang. Chaque fois que l'on disposa d'une quantité suffisante de sérum, on le divisa en trois fractions qui furent chauffées pendant 30 minutes, la première à 54-55° la deuxième à 56-57°, la troisième à 60-62°. Pour éviter la coagulation des sérums que l'on chauffa à 60-62°, on les dilua, en ajoutant une partie d'eau physiologique à deux parties de sérum; le taux anticomplémentaire de ces sérums dilués représentait donc les deux tiers de ce qu'il aurait été, si on avait pu chauffer les sérums sans leur faire subir aucune dilution.

Les sérums des nouveau-nés et quelques rares sérums d'adultes ne contiennent pas d'hémolysine antimouton; mais presque tous les sérums humains possèdent une action hémolytique naturelle qui s'exerce sur les globules rouges du Mouton et est susceptible de fausser le dosage de leur

pouvoir anticomplémentaire si l'on emploie la technique habituelle. Si l'on recherche et si l'on veut doser le pouvoir anticomplémentaire développé dans les sérums chauffés à 60-62°, on peut cependant ne pas se préoccuper de l'hémolysine antimouton, puisque cette température détruit la sensibilisatrice naturelle antimouton. Mais si on veut étudier d'une façon précise (1) le pouvoir anticomplémentaire développé dans les sérums chauffés à 54-55° ou à 56-57°, il devient nécessaire de faire disparaître d'une façon certaine l'action hémolytique qu'ils exercent sur les globules rouges du Mouton; on y parvient en déterminant l'absorption de l'hémolysine antimouton par le procédé que nous avons déjà indiqué (2).

I. — Le tableau suivant résume les résultats obtenus par la recherche du pouvoir anticomplémentaire dans 15 sérums de nouveau-nés chauffés à 54-55° et à 56-57° :

Origine du sérum	Durée de conservation du sérum avant l'examen	Recherche de l'hémolysine antimouton	Taux du P. A. C. après chauffage à	
			54-55°	56-57°
Nouveau-né, N° 607	24 h.	0	1/1	1/1
— 609	18 h.	0	1/2	1/1
— 608	22 h.	0	1/1	0
— 105	14 h.	0	1/8	1/2
— 106	14 h.	0	0	0
— 107	13 h.	0	0	0
— 104	24 h.	0	1/2	1/1
— 103	31 h.	0	1/1	0
— 98	24 h.	0	1/1	1/1
— 97	24 h.	0	1/1	1/1
— 86	14 h.	0	...	1/2
— 87	7 h.	0	...	0
— 116	37 h.	0	0	...
— 117	37 h.	0	1/1	...
— 119	37 h.	0	1/1	...

(1) Lorsqu'on désire seulement déceler le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum humain, on peut négliger l'action de l'hémolysine antimouton et se contenter de rechercher le pouvoir anticomplémentaire après chauffage à 54-55° ou à 56-57°. On doit seulement savoir que le taux anticomplémentaire ainsi déterminé est toujours trop faible.

(2) On peut encore employer, au lieu d'un système hémolytique antimouton un système hémolytique anti-Homme — sérum anti-Homme et globules rouges d'Homme — ou antibœuf — sérum antibœuf et globules rouges de Bœuf.

Le chauffage à 54-55° développe donc le pouvoir anticomplémentaire dans 77 p. 100 des sérums de nouveau-nés qui acquièrent un pouvoir anticomplémentaire très fort dans 7,7 p. 100 des cas, moyen dans 15,3 p. 100 des cas, faible dans 77 p. 100 des cas. Le chauffage à 56-57°, dans 58 p. 100 des sérums de nouveau-nés, détermine l'apparition d'un pouvoir anticomplémentaire qui est moyen dans 16,6 p. 100 des cas et faible dans 83,4 p. 100 des cas.

D'autre part, 6 sérums d'adulte, qui ne contenaient pas d'hémolysine antimouton ou n'en contenaient que de faibles traces, furent chauffés à 56-57°.

Origine du sérum	Durée de conservation du sérum avant l'examen	Recherche de l'hémolysine antimouton	Taux du P.A.C. après chauffage à 56-57°
Femme enceinte, gross. 7 mois.	24 h.	0	0
— gross. 7 mois.	24 h.	0	0
— gross. 7 mois.	24 h.	traces	0
— gross. 8 mois.	24 h.	0	0
— gross. 9 mois.	24 h.	0	0
— gross. 9 mois.	24 h.	traces	0

Aucun de ces sérums chauffés à 56-57° ne put donc acquiescir le pouvoir anticomplémentaire.

II. — Dans un deuxième groupe se rangent 7 sérums, dont l'hémolysine antimouton fut absorbée par les globules rouges de Mouton, avant qu'ils fussent chauffés à 54-55°.

Origine du sérum	Durée de conservation du sérum avant l'examen	Recherche de l'hémolysine après contact avec les G.R. de Mouton	Taux du P.A.C. après chauffage à 54-55°
Femme enceinte, gross. 6 mois.	24 h.	0	1/1
— gross. 8 m. 1/2.	24 h.	0	0
— gross. 8 m. 1/2.	24 h.	0	1/1
Enfant 6 ans.....	24 h.	0	1/2
« 11 ans.....	24 h.	0	1/2
« 13 ans.....	24 h.	0	1/2
« 7 ans.....	24 h.	0	1/2
« 13 ans.....	24 h.	0	1/2
« 7 ans.....	24 h.	0	1/2

Le pouvoir anticomplémentaire se développa dans 6 de ces 7 sérums, traités par les globules rouges de Mouton, puis chauffés à 54-55°; mais, le taux anticomplémentaire de ces 6 sérums ne fut jamais élevé : dans 2 cas il était faible, dans 4 cas il était moyen.

III. — Le pouvoir anticomplémentaire peut être recherché directement dans les sérums d'adultes chauffés à 60-62°. température à laquelle l'hémolysine antimouton est détruite. Le tableau que nous donnons ci-dessous indique les résultats qui furent obtenus pour 18 sérums de femmes enceintes et 4 sérums d'adultes; le même tableau indique également les résultats obtenus pour 13 sérums de nouveau-nés.

Origine du sérum	Durée de conservation du sérum avant l'examen	Recherche de l'hémolysine après chauffage du sérum à 60-62°	Taux du P. A. C. après chauffage du sérum à 60-62°
Femme enceinte 8 m. 1/2 .	24 h.	0	1/2
— — 7 mois .	24 h.	0	0
— — 8 mois .	24 h.	0	0
— — 6 mois .	24 h.	0	0
— — 8 mois .	24 h.	0	0
Femmes enceintes 6 m. 1/2 et 9 mois (sérums réunis).	24 h.	0	0
Femme enceinte 8 mois .	24 h.	0	0
Femmes enceintes 6 mois et 9 mois (sérums réunis).	24 h.	0	0
Femme enceinte 8 m. 1/2 .	24 h.	0	0
— — 8 m. 1/2 .	24 h.	0	1/1
— — 7 mois .	24 h.	0	0
Femmes enceintes 6 mois et 9 mois (sérums réunis).	24 h.	0	0
Femme enceinte 8 m. 1/2 .	24 h.	0	1/1
— — 7 mois .	24 h.	0	0
Adulte, 23 ans.	31 h.	0	0
— 22 ans.	31 h.	0	1/1
— 23 ans.	31 h.	0	0
— 21 ans.	31 h.	0	1/1

Origine du sérum	Durée de conservation du sérum avant l'examen	Recherche de l'hémolysine après chauffage du sérum à 60-62°	Taux du P.A.C. après chauffage du sérum à 60-62°
Nouveau-né, n° 607 . . .	24 h.	0	1/8
— n° 609 . . .	18 h.	0	1/16
— n° 608 . . .	22 h.	0	1/8
— n° 105 . . .	14 h.	0	1/80
— n° 106 . . .	14 h.	0	1/1
— n° 107 . . .	13 h.	0	1/1
— n° 104 . . .	24 h.	0	1/2
— n° 103 . . .	31 h.	0	1/2
— n° 98 . . .	24 h.	0	1/2
— n° 97 . . .	24 h.	0	1/4
— n° 116 . . .	37 h.	0	1/8
— n° 117 . . .	37 h.	0	1/10
— n° 119 . . .	37 h.	0	1/4

Le chauffage à 60-62° détermina donc l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans 53 p. 100 des sérums. Mais, tandis que la température de 60-62° développa dans tous les sérums de nouveau-nés un pouvoir anticomplémentaire qui fut en général fort ou très fort, la même température, fit apparaître très rarement dans les sérums d'adulte et de femmes enceintes un pouvoir anticomplémentaire qui fut toujours faible.

Les sérums humains, comme les sérums des animaux, peuvent donc devenir anticomplémentaires par l'action de la chaleur; mais, suivant l'origine des sérums, le chauffage exerce sur eux une action bien différente.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DU VIEILLISSEMENT. — Le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain, déterminé par l'action du vieillissement, a été étudié par Zinsser et Johnson (1911), par Kyutoku (1919), par Auguste (1934). Kyutoku a constaté que le pouvoir anticomplémentaire se développait à l'étuve à 37° en 3 à 7 jours, à la température du laboratoire en 7 jours environ, à la température de 0 à 2° en 9 à 10 jours.

Il nous a paru particulièrement intéressant d'étudier l'action du vieillissement sur les sérums humains maintenus à $+5^{\circ}$, température à laquelle sont laissés les sérums dans la plupart des laboratoires lorsqu'on ne peut pas les examiner dès leur réception. En effet, la conservation des sérums à basse température — à la glacière, ou mieux au frigidaire — a, d'une part, l'avantage bien connu de rendre plus difficile la culture des microbes qui pourraient y avoir été introduits par une erreur de technique et, d'autre part, permet, d'obtenir la disparition de l'alexine et de l'hémolysine antimouton sans qu'il soit nécessaire de soumettre les sérums à l'action de la chaleur. Si le sérum est mis en ampoules et laissé à une température constante de $+5^{\circ}$, l'alexine disparaît dans 41 p. 100 des cas de la 24^e heure au 4^e jour; dans 52 p. 100 des cas du 4^e au 17^e jour; dans les autres cas du 17^e au 91^e jour. Dans les mêmes conditions, l'hémolysine antimouton disparaît dans 36,3 p. 100 des cas de la 24^e heure au 10^e jour et ne se rencontre plus jamais à partir du 11^e jour.

Les sérums humains, que nous avons soumis au vieillissement, furent distribués à l'état frais en ampoules qui, furent scellées et placées au frigidaire réglé à $+5^{\circ}$; nous avons toujours eu soin avant de doser le pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis de nous assurer qu'ils étaient parfaitement limpides et ne contenaient plus ni alexine, ni hémolysine.

Les 55 sérums qui furent examinés par nous provenaient de sujets normaux — 3 vieillards, 44 femmes enceintes, 4 adultes, 2 enfants, 2 nouveau-nés. Un seul de ces sérums — sérum de nouveau-né, conservé depuis 18 jours au frigidaire — ne possédait que des traces de pouvoir anticomplémentaire; les 54 autres sérums étaient devenus nettement anticomplémentaires. Le taux du pouvoir anticomplémentaire de ces sérums était toujours très élevé.

P. A. C. égal ou supérieur à $1/80$:

$$44 \text{ sérums provenant de : } \left\{ \begin{array}{l} 37 \text{ femmes enceintes,} \\ 1 \text{ enfant,} \\ 3 \text{ adultes,} \\ 3 \text{ vieillards.} \end{array} \right\} = 78,5 \text{ p. } 100$$

P. A. C. compris entre $1/80$ et $1/32$:

$$3 \text{ sérums provenant de : } \left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ femmes enceintes,} \\ 1 \text{ adulte.} \end{array} \right\} = 5,3 \text{ p. } 100$$

P. A. C. compris entre $1/32$ et $1/10$:

$$7 \text{ sérums provenant de : } \left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ femmes enceintes,} \\ 1 \text{ nouveau-né,} \\ 1 \text{ enfant.} \end{array} \right\} = 18,8 \text{ p. } 100$$

P. A. C. inférieur à $1/10$:

$$1 \text{ sérum provenant d'un nouveau-né} = 1,7 \text{ p. } 100$$

Le pouvoir anticomplémentaire peut atteindre le taux de $1/80$ avant le 10^e jour — sérums de femmes enceintes; mais il peut, aussi, se développer graduellement comme le montrent les trois exemples suivants :

Origine du sérum	Durée de la conservation	Taux du P. A. C.
Femme enceinte, 25 ans; gross. 8 mois. {	16 jours	$1/16$
	29 jours	$1/80$
Femme enceinte, 34 ans; gross. 7 mois. {	16 jours	$1/20$
	29 jours	$1/80$
Femmes enceintes, 19, 33, 28 ans, gross. {	16 jours	$1/20$
7, 7 1/2, 6 m. (sérums réunis).	29 jours	$1/80$

Le pouvoir anticomplémentaire des sérums humains qui ont été soumis au vieillissement peut se maintenir à un taux élevé pendant très longtemps : le taux anticomplémentaire de plusieurs sérums conservés depuis plus de

85 jours était encore de $1/80$; le taux d'un sérum, vieux de 27 mois, était de $1/64$ (1).

Dans presque tous les examens qui furent faits pour doser le pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis, on ne chercha pas le taux anticomplémentaire dans les sérums dilués au-delà de 1 p. 80. Cependant deux fois, la dilution des sérums fut portée jusqu'à 1 p. 100.000 : il fut ainsi possible de reconnaître que le taux anticomplémentaire de l'un de ces sérums était de $1/100$ et celui d'un autre de $1/1.000$.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE NATUREL. — Le pouvoir anticomplémentaire naturel ne peut être recherché que si les sérums, ne contiennent à l'état frais ni alexine, ni hémolysine antimouton ou s'ils ont été inactivés et débarrassés de leur hémolysine naturelle par des procédés incapables de déterminer l'apparition du pouvoir anticomplémentaire artificiel.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums ne contenant ni alexine, ni hémolysine naturelle. — Le sérum du nouveau-né, provenant du sang du cordon, ne contient jamais d'hémolysine antimouton et est souvent dépourvu de toute trace d'alexine : on peut donc, fréquemment, y rechercher directement le pouvoir anticomplémentaire naturel. D'autre part, l'absence d'alexine et d'hémolysine naturelle est, par exception, constatée dans des sérums d'adultes, recueillis sur des sujets normaux ou atteints d'affections pathologiques; le pouvoir anticomplémentaire pourra encore être recherché et dosé sans peine dans ces sérums. Nous résumerons dans le tableau suivant les résultats de l'examen de 14 sérums de nouveau-nés et de 2 sérums d'adultes.

(1) Il n'en est cependant pas toujours ainsi : le taux du pouvoir anticomplémentaire d'un sérum était de $1/80$ au trentième jour et était tombé à $1/32$ sept jours plus tard.

Origine du sérum	Durée de la conservation du sérum	Alexine	Hémolysine anti-mouton	Taux du P. A. C. naturel
Nouveau-né N° 33.	3 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 104.	15 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 109.	18 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 144.	17 heures	0	0	1/10
Nouveau-né N° 145.	12 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 146.	12 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 147.	16 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 148.	16 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 149.	16 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 150.	17 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 151.	9 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 152.	15 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 153.	24 heures	0	0	0
Nouveau-né N° 154.	24 heures	0	0	0
Femme enceinte, gross. 2 mois.....	20 heures	0	traces légères	0
Sujet normal, 56 ans.....	19 heures	0	0	1/80

Le sérum des nouveau-nés possède donc très rarement le pouvoir anticomplémentaire naturel. Le sérum des sujets normaux, lorsqu'il ne contient ni alexine, ni hémolysine naturelle, possède parfois un pouvoir anticomplémentaire dont le taux peut même être très élevé.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums contenant de l'alexine et de l'hémolysine. — Parmi les sérums examinés, un seul contenait de l'alexine, mais ne renfermait pas d'hémolysine antimouton. Tous les autres sérums, au contraire, contenaient à la fois de l'alexine et de l'hémolysine antimouton. L'inactivation de 9 sérums fut obtenue par le chauffage à 49°, température qui fait disparaître l'alexine sans rendre le sérum anticomplémentaire. Après cette inactivation deux des sérums ne contenaient plus d'hémolysine; l'hémolysine fut extraite des 7 autres sérums par absorption au moyen des globules rouges de Mouton.

Origine du sérum	Taux de l'alexine dans le sérum frais	Taux de l'hémolysine dans le sérum frais	Traitement subi par le sérum	Taux du P.A.C. naturel après traitement
Femme enceinte N° 87, 31 ans, gross. 8 mois.	1/2	1/1	49° pendant 30'	traces
Femme enceinte N° 88, 16 ans, gross. 9 mois.	traces	1/1	49° pendant 30'	0
Femme enceinte N° 89, 23 ans, gross. 1 mois.	1/2	1/2	49° pendant 30' puis adsorption de l'hémolysine	1/8
Femme enceinte N° 90, 28 ans, gross. 8 mois.	1/2	1/2	49° pendant 30' puis adsorption de l'hémolysine	1/64
Femme enceinte N° 91, 25 ans, gross. 8 mois.	1/2	1/2	49° pendant 30' puis adsorption de l'hémolysine	1/4
Femme enceinte N° 92, 36 ans, gross. 8 mois.	1/2	0	49° pendant 30'	0
Femme enceinte N° 95, 19 ans, gross. 8 m. 1/2.	1/4	1/2	49° pendant 30' puis adsorption de l'hémolysine	0
Femme enceinte N° 96, 20 ans, gross. 9 mois.	1/8	1/2	49° pendant 30' puis adsorption de l'hémolysine	0
Femme enceinte N° 97, 32 ans, gross. 8 mois.	1/8	1/2	49° pendant 45' puis adsorption de l'hémolysine	1/4

Il restait à démontrer que le pouvoir anticomplémentaire, constaté dans quelques-uns des sérums inactivés à 49°, ne pouvait pas avoir été développé par le chauffage à cette température; pour en fournir la démonstration il devait suffire de porter ces sérums anticomplémentaires à une température susceptible de détruire le pouvoir anticomplémentaire naturel, et non le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. La recherche put être faite sur

des sérums de femmes enceintes (1) : chauffés à 56-57°, ils perdirent leur pouvoir anticomplémentaire dont la nature était démontrée par son caractère thermolabile.

Le sérum humain peut donc posséder le pouvoir anticomplémentaire naturel, soit lorsqu'il est dépourvu d'alexine et d'hémolysine naturelle, soit lorsqu'il contient de l'alexine, mais non de l'hémolysine, soit enfin lorsqu'il contient à la fois de l'alexine et de l'hémolysine. Le nombre des examens qui ont été faits ne permet pas d'apprécier la fréquence du pouvoir anticomplémentaire naturel aux différents âges; toutefois, le pouvoir anticomplémentaire naturel semble être plus rare chez le nouveau-né que chez l'adulte. Le pouvoir anticomplémentaire naturel paraît atteindre toujours un taux très élevé, lorsqu'il existe chez l'adulte.

En résumé : 1° Contrairement à ce que l'on avait pensé, le sérum humain peut, lorsqu'il est chauffé à 54-62° acquérir le pouvoir anticomplémentaire. Mais, quelle que soit la température employée, le taux de ce pouvoir anticomplémentaire n'est que par exception supérieur à 1/2; les taux de 1/4, 1/8, 1/10, 1/16... 1/80 n'appartiennent guère qu'aux sérums de nouveau-nés qui ont été chauffés à 60-62°.

2° Soumis à l'action du vieillissement à +5° pendant 8 à 10 jours, le sérum humain devient d'une façon presque constante anticomplémentaire. Le taux anticomplémentaire ainsi acquis est beaucoup plus élevé que le taux anticomplémentaire des sérums humains qui ont été chauffés : dans plus des deux tiers des cas, il s'élève à 1/80 et il n'est jamais inférieur à 1/10.

3° Le sérum humain possède dans quelques cas un pouvoir anticomplémentaire naturel dont le taux dépasse toujours 1/4 et peut atteindre 1/80.

(1) Rappelons que le sérum des femmes enceintes n'acquiert pas le pouvoir anticomplémentaire de chauffage lorsqu'il est porté pendant 30 minutes à 56-57°.

Le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cobaye

Soumis à l'action de la chaleur, le sérum de Cobaye devient le plus souvent anticomplémentaire. Il devient plus rarement et plus faiblement anticomplémentaire lorsqu'il est soumis à l'action du vieillissement.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DE LA CHALEUR. — Le sang des Cobayes fut recueilli par section de la carotide et, à mesure qu'il s'écoulait, il était défibriné par battage à la baguette de verre. Lorsque la défibrination était achevée, le sang était centrifugé pour séparer le sérum des globules rouges (1). La plupart des 78 sérums de Cobayes, qui furent examinés, furent soumis à l'action de la chaleur moins de 5 heures après la récolte du sang. Les sérums, qui ne purent être chauffés aussi rapidement, furent conservés moins de 24 heures à $+5^{\circ}$.

Pour développer leur pouvoir anticomplémentaire, on chauffa les sérums de Cobayes à $54-55^{\circ}$, à $56-57^{\circ}$, à $60-62^{\circ}$. Le chauffage à $54-55^{\circ}$ rendit anticomplémentaires 47 p. 100 des sérums. Le chauffage à $56-57^{\circ}$ détermina l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans 76 p. 100 des sérums. Le chauffage à $60-62^{\circ}$ développa le pouvoir anticomplémentaire de 89 p. 100 des sérums (2).

(1) On recueille une plus forte quantité de sérum lorsqu'on défibrine le sang que lorsqu'on laisse le caillot se former : c'est pour cette raison que les sangs de nos Cobayes furent toujours défibrinés. La défibrination a, d'ailleurs, l'avantage de permettre de rechercher le pouvoir anticomplémentaire des sérums de Cobayes très peu de temps après la saignée.

(2) Les sérums, qui ne deviennent pas franchement anticomplémentaires après chauffage à $54-55^{\circ}$, contiennent dans 42 p. 100 des cas des traces de pouvoir anticomplémentaire. Après chauffage à $56-57^{\circ}$, ces traces se retrouvent dans 12 p. 100 des sérums et après chauffage à $60-62^{\circ}$ dans 11 p. 100 des sérums.

Le taux du pouvoir anticomplémentaire qu'acquièrent les sérums de Cobayes sous l'action de la chaleur varie suivant la température à laquelle on les a soumis. Le tableau suivant indique le taux atteint par le pouvoir anticomplémentaire dans trois groupes de sérums dont les premiers furent chauffés à 54-55°, les seconds à 56-57°, les troisièmes à 60-62°.

Température de chauffage	Taux du P. A. C.
54-55°	$\left\{ \begin{array}{l} 1/1 = 50 \text{ p. } 100 \\ 1/2 = 25 \text{ p. } 100 \\ 1/4 = 21 \text{ p. } 100 \\ 1/32 = 4 \text{ p. } 100 \end{array} \right.$
56-57°	$\left\{ \begin{array}{l} 1/1 = 49 \text{ p. } 100 \\ 1/2 = 36 \text{ p. } 100 \\ 1/4 = 7 \text{ p. } 100 \\ 1/16 = 14 \text{ p. } 100 \end{array} \right.$
60-62°	$\left\{ \begin{array}{l} 1/1 = 0 \text{ p. } 100 \\ 1/2 = 33 \text{ p. } 100 \\ 1/4 = 29 \text{ p. } 100 \\ 1/8 = 17 \text{ p. } 100 \\ 1/16 = 11 \text{ p. } 100 \\ 1/64 = 6 \text{ p. } 100 \end{array} \right.$

Les sérums de Cobaye acquièrent donc un pouvoir anticomplémentaire égal ou supérieur à 1/2 dans 50 p. 100 des cas lorsqu'ils furent chauffés à 54-55°, dans 57 p. 100 des cas lorsqu'ils furent chauffés à 56-57°, dans 100 p. 100 des cas lorsqu'ils furent chauffés à 60-62°.

On peut mieux encore apprécier les différences de l'action exercée par les chauffages à 54-55°, à 56-57° et à 60-62°, lorsque chacun des sérums est divisé en trois échantillons qui sont simultanément chauffés à 54-55°, à 56-57° et à 60-62°.

Origine du sérum	Température de chauffage	Taux du P. A. C.
Cobaye 47.....	54-55°	1/2
	56-57°	1/4
	60-62°	1/8
Cobaye 48.....	54-55°	1/4
	56-57°	1/4
	60-62°	1/16
Cobayes 89 et 89 bis. (sérum mélangés).....	54-55°	1/10
	56-57°	1/10
	60-62°	1/16
Cobaye 88.....	54-55°	1/10
	56-57°	1/10
	60-62°	1/64

Le chauffage à 54-55° et le chauffage à 56-57° paraissent donc développer un pouvoir anticomplémentaire sensiblement égal dans les sérums de Cobayes, tandis que le chauffage à 60-62° permet à ces sérums d'acquérir un pouvoir anticomplémentaire dont le taux est beaucoup plus élevé (1).

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DU VIEILLISSEMENT. — Sur 20 sérums de Cobayes qui furent conservés au frigidaire à + 5°, 8 devinrent anticomplémentaires (2); ces 8 sérums n'avaient, d'ailleurs, pas été soumis à l'action du vieillissement pendant plus longtemps que les 12 autres sérums.

(1) Il faut se souvenir, en outre, que, pour pouvoir chauffer les sérums à 60-62° sans les coaguler, on doit les diluer dans la proportion de 2 parties de sérum, pour une partie d'eau physiologique. Le taux anticomplémentaire réel des sérums chauffés à 60-62° est donc supérieur à celui qu'indique leur titrage. Il est surtout nécessaire de tenir compte de la dilution qu'ont subi les sérums, lorsque l'on doit interpréter les rares cas où des sérums de cobayes, chauffés à 60-62° paraissent posséder un pouvoir anticomplémentaire égal ou légèrement inférieur à celui des mêmes sérums chauffés à 54-55° ou à 56-57°.

(2) En outre, 4 des 12 autres sérums empêchaient partiellement l'hémolyse et possédaient un léger pouvoir anticomplémentaire.

Origine du sérum	Durée du vieillissement à + 5°	Taux du P.A.C.
Cobaye n° 24.....	45 jours	1/1
— n° 25.....	38 —	1/10
— n° 33.....	13 —	1/1
— n° 38.....	29 —	1/8
— n° 43.....	25 —	1/4
Cobayes n° 47 et 48 (sérums mélangés)	15 —	1/80
— n° 88 et 88 <i>bis</i> »	15 —	1/2
— n° 89 et 89 <i>bis</i> »	16 —	1/8

Les sérums de Cobayes, soumis au vieillissement à + 5°, acquièrent donc dans 42 p. 100 des cas un pouvoir anticomplémentaire dont le taux, dans la moitié des cas, est supérieur à 1/2 et peut même s'élever jusqu'à 1/80 (1).

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE NATUREL. — Il a été impossible de rechercher le pouvoir anticomplémentaire naturel dans les sérums de Cobayes. La richesse en alexine des sérums de Cobayes ne permet pas, en effet, d'avoir recours à la méthode — chauffage à 49° — qui fut employée pour l'étude du pouvoir anticomplémentaire naturel dans le sérum humain.

Le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cheval

Le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cheval a été étudié par D. Brocq-Rousseu, L. Nattan-Larrier, G. Roussel, L. Steeg. Le sérum de Cheval possède un pouvoir anticomplémentaire naturel dont le taux peut être

(1) Le taux anticomplémentaire des sérums de Cobayes vieillis ne paraît pas corrélatif à la durée de leur conservation à + 5°. Cependant le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum peut s'accroître à mesure qu'il vieillit : le taux anticomplémentaire d'un sérum de Cobaye qui était de 1/1 au 8^e jour, s'éleva ainsi à 1/2 au 16^e jour.

très élevé. Le sérum de Cheval peut, en outre, devenir anticomplémentaire, lorsqu'il subit l'action de la chaleur. Enfin, ce sérum devient anticomplémentaire par vieillissement.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE NATUREL DU SÉRUM. — La recherche du pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Cheval est facile, car ce sérum ne contient pas d'alexine, ou en contient de faibles traces. Nous indiquerons les résultats fournis par l'étude de trois sérums provenant de Chevaux saignés 6 heures avant l'examen.

Origine du sérum	Taux de l'alexine	Taux du P. A. C. naturel
Cheval 278	néant	1/16
Cheval 1224	néant	1/8
Cheval 1038	néant	1/4

De ces trois faits et d'autres faits identiques, il résulte que le sérum de Cheval possède le pouvoir anticomplémentaire naturel; mais le taux de ce pouvoir anticomplémentaire naturel peut varier dans de très larges limites.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DE LA CHALEUR. — Le sérum de Cheval acquiert toujours un pouvoir anticomplémentaire très intense lorsqu'il est chauffé à 54-55°; il devient beaucoup plus rarement et plus faiblement anticomplémentaire par chauffage à 56-57°; il ne devient pas anticomplémentaire ou ne possède qu'un léger pouvoir anticomplémentaire après avoir été chauffé à 60-62°. Sur 17 sérums qui furent soumis au chauffage à 54-55°, 17 devinrent anticomplémentaires et acquirent un pouvoir anticomplémentaire dont le taux varia de 1/1 à 1/40. Après chauffage à 56-57°, 7 de ces 17 sérums devinrent anticomplémentaires et leur taux anticomplémentaire varia de 1/1 à 1/4. Après chauffage à 60-

62°, 1 seul des 17 sérums devint anticomplémentaire et son taux anticomplémentaire fut de 1/1 (1).

Le tableau suivant permet de comparer le taux anticomplémentaire du même sérum avant et après qu'il ait été chauffé.

Origine du sérum	Taux du P. A. C. naturel	Taux du P. A. C. dans le sérum chauffé à		
		54-55°	56-57°	60-62°
Cheval 278	1/16	1/40	1/4	0
Cheval 1224	1/8	1/40	traces	traces
Cheval 1038	1/4	1/12	1/2	1/1

Ce tableau montre, d'autre part, qu'il est difficile d'interpréter exactement l'action qu'exerce la chaleur sur le sérum de Cheval. Le pouvoir anticomplémentaire si élevé que l'on constate lorsque ce sérum a été chauffé à 54-55°, correspond-il à la somme du pouvoir anticomplémentaire naturel et du pouvoir anticomplémentaire de chauffage? Le chauffage à 54-55° exerce-t-il, au contraire, une action inverse en déterminant l'apparition du pouvoir anticomplémentaire de chauffage et en détruisant le pouvoir anticomplémentaire naturel? Les deux hypothèses peuvent être discutées, mais c'est la seconde qui nous paraît la plus facile à admettre. On devrait de même, nous semble-t-il, estimer que le pouvoir anticomplémentaire observé sur le sérum de Cheval, qui a été chauffé à 56-57° ou à 60-62°, correspond seulement au pouvoir anticomplémentaire de chauffage.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DU VIEILLISSEMENT. — Les sérums de Cheval qui ont été conservés à +5° pendant 7 à 60 jours possèdent un pouvoir anticomplémentaire dont le taux varie entre 1/2 et 1/64, mais dépasse 1/4 et est très fort dans 82 p. 100 des cas. Cependant, comme ces sérums étaient déjà anticom-

(1) Des traces de pouvoir anticomplémentaire apparurent, en outre, dans 10 des sérums chauffés à 56-57° et dans 2 sérums chauffés à 60-62°.

plémentaires avant d'avoir été placés à la glacière, on doit se demander si leur pouvoir anticomplémentaire naturel fut seulement maintenu ou bien s'il se modifia sous l'action du vieillissement. L'examen du même sérum d'abord quelques heures après sa récolte, puis à intervalles réguliers permet de répondre à cette question.

Origine du sérum	Taux du P.A.C. naturel	Taux du P.A.C. après conservation au frigidaire pendant		
		7 jours	14 jours	23 jours
Cheval 278	1/16	1/64	1/32	1/8
Cheval 1038	1/4	1/64	1/2	1/2
Cheval 1224	1/8	1/64	1/4	1/4

On constate donc qu'au bout de 7 jours le taux anticomplémentaire du sérum s'est considérablement élevé, mais que 8 à 15 jours plus tard il s'est abaissé pour atteindre un niveau inférieur à celui qu'il possédait dans le sérum frais. Au bout de combien de temps les sérums de Cheval vieillissent-ils perdu tout pouvoir anticomplémentaire? Le taux anticomplémentaire de 5 sérums conservés depuis 50 à 60 jours variait encore entre 1/10 et 1/2; mais un sérum, vieux de 150 jours avait cessé d'être anticomplémentaire.

En résumé, pendant une première période, le sérum de Cheval soumis au vieillissement, acquiert un pouvoir anticomplémentaire supérieur à celui qu'il possédait à l'état frais, puis son pouvoir anticomplémentaire diminue pour disparaître enfin en totalité

Le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Coq

L'action qu'exercent la chaleur et le vieillissement sur le sérum de Coq se rapproche de l'action exercée par ces deux facteurs sur le sérum humain (1).

(1) Le sang fut obtenu par saignée de la carotide, puis fut défibriné et centrifugé.

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DE LA CHALEUR. — La chaleur exerce une faible action sur le développement du pouvoir anticomplémentaire du sérum de Coq. Le chauffage à 54-55° paraît plus actif que le chauffage à 56-57° : le premier, en effet, détermine l'apparition d'un faible pouvoir anticomplémentaire, tandis que le second provoque seulement l'apparition de traces de pouvoir anticomplémentaire. Quant au chauffage à 60-62°, nous ne l'avons pas vu rendre le sérum de Coq anticomplémentaire (1).

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DÉVELOPPÉ SOUS L'ACTION DU VIEILLISSEMENT. — Le vieillissement développe beaucoup plus facilement que le chauffage le pouvoir anticomplémentaire. Nous avons ainsi vu le sérum de Coq maintenu à +5° pendant 12 jours acquérir un taux anticomplémentaire de 1/10 (2).

Conclusions

1. — On doit distinguer le *pouvoir anticomplémentaire naturel* qui existe dans des sérums qui n'ont été soumis ni au chauffage ni au vieillissement, le *pouvoir anticomplémentaire de chauffage* qui se développe dans les sérums chauffés à 54-62°, le *pouvoir anticomplémentaire de vieillissement*.

(1) Pour interpréter exactement ce résultat, on doit se souvenir que le sérum de Coq fut toujours dilué avant d'être soumis au chauffage à 60-62°.

(2) Le pouvoir anticomplémentaire qu'acquiert le sérum du Lapin lorsqu'on le soumet à l'action de la chaleur a été l'objet de travaux si complets en Allemagne et aux Etats-Unis qu'il nous a semblé inutile d'en reprendre l'étude. Nous avons seulement pensé qu'il y aurait quelque intérêt à rechercher si le vieillissement pourrait donner à ce sérum le pouvoir anticomplémentaire : plusieurs sérums de Lapins, conservés pendant 2 mois à +5°, n'acquirent pas le pouvoir anticomplémentaire.

lissement qui apparaît dans les sérums conservés soit à l'étuve à 37-38°, soit à la température du laboratoire, soit à la glacière.

2. — Tous les sérums paraissent pouvoir acquérir le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. Le sérum humain n'est pas le seul sérum qui puisse acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Le pouvoir anticomplémentaire naturel est rarement observé chez l'Homme, mais il existe toujours dans le sérum de certaines espèces animales.

3. — Les mêmes températures n'exercent pas la même action sur tous les sérums, quelle que soit l'espèce animale dont ils proviennent. Les températures de 54-55°, de 56-57° ou de 60-62°, ne provoquent pas, toutes trois, avec une égale facilité le développement du pouvoir anticomplémentaire dans les sérums qui proviennent de la même espèce animale.

CHAPITRE III

LES VARIATIONS DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

Les sérums humains, soumis à l'action de la chaleur ou du vieillissement, n'acquièrent pas tous le pouvoir anticomplémentaire et tous les sérums, qui deviennent anticomplémentaires, ne le sont pas également. Parmi les facteurs, qui possèdent une action incontestable sur le pouvoir anticomplémentaire, on doit signaler l'âge et l'état physiologique ou pathologique des sujets; mais d'autres conditions, qui restent encore inconnues, exercent certainement une influence aussi marquée sur les variations du pouvoir anticomplémentaire humain. Il existe, de même, chez les animaux, des variations individuelles du pouvoir anticomplémentaire dont l'origine n'a pas été encore éclaircie.

L'âge et le pouvoir anticomplémentaire

Ni le chauffage, ni le vieillissement ne provoquent avec la même facilité le développement du pouvoir anticomplémentaire dans les sérums des nouveau-nés, des enfants et des adultes.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés. — Le chauffage à 54-55° rend anticomplémentaires 77 p. 100 des sérums de nouveau-nés, 80 p. 100 des sérums d'enfants âgés de 4 à 15 ans, 25 p. 100 des sérums d'adultes. Le

taux anticomplémentaire pour les premiers est, dans la plupart des cas, faible ou moyen; il n'est jamais fort pour les deuxièmes; il est toujours faible pour les troisièmes.

Le chauffage à 56-57° développe le pouvoir anticomplémentaire dans 58 p. 100 des sérums de nouveau-nés, dans 33 p. 100 des sérums d'enfants et également dans 33 p. 100 des sérums d'adultes. Dans les deux premiers cas, le taux anticomplémentaire est moyen ou faible; dans le troisième cas, il est faible.

Lorsque les sérums de nouveau-nés sont chauffés à 60-62°, ils deviennent toujours anticomplémentaires et leur taux anticomplémentaire dans 61 p. 100 des cas est fort ou très fort. Soumis à la même température, les sérums d'enfants ne deviennent jamais anticomplémentaires. Quant aux sérums d'adultes, après chauffage à 60-62°, ils acquièrent le pouvoir anticomplémentaire dans 50 p. 100 des cas, mais leur taux anticomplémentaire ne dépasse pas 1/1.

Le tableau suivant résume ces faits et montre bien que le chauffage n'exerce pas la même action sur tous les sérums humains.

Origine des sérums	Fréquence du P. A. C. dans les sérums chauffés à		
	54-55°	56-57°	60-62°
Sérums de nouveau-nés	77 p. 100	58 p. 100	100 p. 100
Sérums d'enfants	80 —	33 —	0 —
Sérums d'adultes	25 —	33 —	50 —

Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieilliss. — Seuls les sérums des nouveau-nés n'acquièrent pas d'une façon constante le pouvoir anticomplémentaire, lorsqu'ils sont conservés plus de 8 jours à +5°; cependant, 67 p. 100 d'entre eux deviennent encore anticomplémentaires; leur taux anticomplémentaire très variable est faible ou très fort. Le vieillissement rend, au contraire, toujours anticomplémentaires les sérums d'enfants, d'adultes ou de vieillards : le taux anticomplémentaire des sérums d'enfants

peut ne pas être supérieur à $1/20$; celui des sérums d'adultes et de vieillards dépasse toujours $1/40$ et s'élève dans presque tous les cas à $1/80$.

Le rythme sexuel et le pouvoir anticomplémentaire

Les hormones sexuelles semblent exercer une action importante sur les variations du pouvoir anticomplémentaire. Ainsi s'expliqueraient les caractères du pouvoir anticomplémentaire chez les femmes enceintes aussi bien que le parallélisme que l'on peut observer entre le rythme génital chez certains animaux et les modifications périodiques que subit le pouvoir anticomplémentaire de leur sérum.

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE CHEZ LES FEMMES ENCEINTES. — L'action de la chaleur et celle du vieillissement ne s'exercent pas de la même façon sur le sérum des femmes enceintes et sur le sérum des adultes normaux.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés. — Le sérum des femmes enceintes, chauffé à $54-55^{\circ}$ devient anticomplémentaire dans 66 p. 100 des cas, tandis que les sérums d'adultes ne le deviennent que dans 25 p. 100 des cas. Le chauffage à $56-57^{\circ}$ et le chauffage à $60-62^{\circ}$ ne rendent pas anticomplémentaires les sérums des femmes qui sont en état de gestation, tandis que la première de ces températures développe le pouvoir anticomplémentaire des sérums d'adultes dans 33 p. 100 des cas et que la seconde détermine l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans 52 p. 100 des sérums d'adultes.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis. — Les sérums des femmes enceintes, comme tous les sérums d'adultes

tes, deviennent anticomplémentaires lorsqu'ils sont conservés à $+5^{\circ}$. Le taux anticomplémentaire de vieillissement du sérum de femmes gravides, qui est très élevé, ne paraît pas l'être plus que le taux anticomplémentaire des sérums normaux d'adultes. Mais le pouvoir anticomplémentaire se développe peut être plus rapidement dans les sérums de femmes enceintes que dans les sérums des sujets normaux du même âge.

LE CYCLE GÉNITAL ET LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE CHEZ LE COBAYE. — Lorsqu'on dispose d'un élevage composé de Cobayes de même race, pesant le même poids, recevant la même alimentation, il est facile de constater que le sérum de ces animaux, soumis au chauffage à la même température, n'acquiert pas aussi facilement le pouvoir anticomplémentaire à toutes les périodes de l'année.

Le tableau que nous donnons résume les observations faites sur les Cobayes du laboratoire de Protistologie Pathologique du Collège de France pendant plus d'une année.

Mois	Pourcentage des sérums de Cobaye devenus anticomplémentaires après chauffage à $54-55^{\circ}$
Février	66 p. 100
Mars.....	50 p. 100
Avril.....	22 p. 100
Mai.....	61 p. 100
Juin.....	86 p. 100
Octobre.....	0 p. 100
Novembre.....	0 p. 100

Les mêmes variations périodiques parurent s'observer lorsque les sérums de Cobayes furent chauffés à $56-57^{\circ}$.

Sous l'action de cette température, 16 p. 100 des sérums devinrent anticomplémentaires au mois de décembre, tandis que, en janvier et en février, tous les sérums examinés acquirent le pouvoir anticomplémentaire (1).

Les variations périodiques du pouvoir anticomplémentaire s'observèrent chez les Cobayes mâles aussi bien que sur les Cobayes femelles (2) : quel que fut le sexe des animaux la proportion de ceux dont le sérum devint anticomplémentaire par le chauffage resta toujours sensiblement la même.

Il parut impossible d'expliquer les variations périodiques du pouvoir anticomplémentaire du sérum des Cobayes par des modifications saisonnières, soit de l'alimentation, soit de l'hygiène de ces animaux. Au contraire, il sembla exister des relations entre l'activité génitale des Cobayes et le taux anticomplémentaire de leur sérum. Lorsqu'aucune femelle de l'élevage n'était fécondée ou lorsque les femelles fécondées étaient peu nombreuses, aucun sérum ne devenait anticomplémentaire par le chauffage à 54-55° ou quelques sérums seulement acquéraient un pouvoir anticomplémentaire partiel. Lorsque les fécondations devenaient plus fréquentes, le chauffage développait plus souvent le pouvoir anticomplémentaire des sérums et, à mesure que le nombre des femelles pleines s'élevait, la pro-

(1) Les indications que nous donnons sur les variations mensuelles du pouvoir anticomplémentaire sont évidemment schématiques et ne correspondent pas strictement à la réalité des faits. C'est ainsi, par exemple, que la proportion des sérums, qui devinrent anticomplémentaires par le chauffage à 54-55°, ne resta pas la même pendant toute la durée du mois de mars. Pendant les 16 derniers jours de ce mois, aucun des sérums de Cobayes soumis au chauffage ne devint anticomplémentaire ; il en fut encore ainsi pendant les 20 premiers jours du mois d'avril, tandis qu'à partir du 20 avril les sérums chauffés devinrent aussi fréquemment anticomplémentaires qu'au mois de mai.

(2) On eut soin de ne pas tenir compte des variations périodiques du pouvoir anticomplémentaire chez les femelles qui étaient pleines.

portion des sérums anticomplémentaires devenait plus grande (1).

Si les variations périodiques du pouvoir anticomplémentaire chez le Cobaye devaient bien recevoir l'interprétation qui vient d'être proposée, il faudrait admettre sans doute qu'un antagonisme, direct ou indirect, existe à l'égard du pouvoir anticomplémentaire entre les hormones de l'activité sexuelle et les hormones de la grossesse : les premières, en effet, rendraient les sérums plus sensibles à l'action de la chaleur, tandis que les deuxièmes permettraient aux sérums d'être chauffés à certaines températures sans devenir anticomplémentaires.

Les états pathologiques et les variations du pouvoir anticomplémentaire

Il est difficile d'apprécier d'une façon exacte les modifications que subit le pouvoir anticomplémentaire au cours des états pathologiques : pour y parvenir, on devrait, en effet, pouvoir comparer le taux anticomplémentaire du sérum tel qu'il était avant l'apparition des troubles morbides et tel qu'il est devenu après leur développement. Comme ces examens répétés ne pourront presque jamais être pratiqués sur l'Homme, on devra se contenter de comparer le pouvoir anticomplémentaire du sérum des malades avec le pouvoir anticomplémentaire moyen de sujets du même âge qui ne sont atteints d'aucun trouble morbide :

(1) Pour mieux établir les relations qui paraissent exister entre l'activité génitale des Cobayes et le pouvoir anticomplémentaire de leur sérum, il serait nécessaire de rechercher l'action que pourraient avoir, sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de chauffage, des injections de folliculine ou de testostérone faites à des Cobayes femelles ou mâles qui ne seraient pas en période de rut. Diverses circonstances nous ont empêché d'entreprendre ces expériences.

cette méthode, qui fournira des indications intéressantes, ne pourra, cependant, donner des résultats rigoureusement exacts.

La pathologie expérimentale et comparée devrait pouvoir fournir des renseignements plus précis sur les variations que les maladies font subir au pouvoir anticomplémentaire du sérum des animaux ; mais on ne peut malheureusement citer qu'un petit nombre de travaux qui ont été consacrés à l'étude des variations pathologiques du pouvoir anticomplémentaire dans la série animale. Kolmer et Casseimann (1913), Kolmer et Trist (1916) ont établi, il est vrai, que, contrairement à ce qu'avaient pensé plusieurs auteurs, la coccidiose ne joue aucun rôle dans le développement du pouvoir anticomplémentaire chez le Lapin. Kolmer et Trist ont également démontré que, chez le Chien, le pouvoir anticomplémentaire du sérum n'est modifié ni par la maladie du jeune âge, ni par les infestations parasitaires. Mais les seules études expérimentales qui aient été entreprises paraissent être celles de A. Bruni sur l'action qu'exercent les brûlures sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum des Lapins. Chez ces animaux, quelques heures après la brûlure, le pouvoir anticomplémentaire subit un abaissement qui est d'autant plus précoc et plus accentué que la lésion est plus grave. L'abaissement du pouvoir anticomplémentaire est, d'ailleurs, passager : après avoir persisté pendant une durée variable, il finit par disparaître, même si la brûlure n'est pas guérie.

Les documents, qui se rapportent à la pathologie humaine, ne sont pas rares. Dès 1901, l'attention fut attirée par Neisser et Döring sur le pouvoir anticomplémentaire que possédait le sérum des sujets atteints de néphrite. Neisser et Döring, en effet, avaient constaté qu'après avoir été chauffé à 56°, le sérum d'un sujet atteint d'urémie était devenu anticomplémentaire. Des faits identiques furent relevés par Laquer (1901), par Zinsser et Johnson (1911). Mais il fut bientôt établi, d'une part, que la né-

phrite chronique n'était pas la seule maladie dans laquelle le sérum devenait anticomplémentaire après avoir été chauffé et, d'autre part, que le sérum des urémiques ne devenait pas toujours anticomplémentaire par le chauffage (Laquer, Senator, Zinsser et Johnson). Lorsque les sérologistes eurent découvert que les sérums humains, même s'ils ont été recueillis sur des sujets normaux, acquièrent le pouvoir anticomplémentaire par le chauffage ou par le vieillissement, on renonça à étudier les relations qui pouvaient exister entre les variations du pouvoir anticomplémentaire et les états pathologiques. La question n'avait, cependant pas perdu son intérêt et elle conservait à la fois une importance théorique et pratique.

Persuadée que la question ne devait pas être abandonnée, nous avons recueilli d'assez nombreux documents sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum au cours de diverses maladies ; mais nos observations sont, pour la plupart, trop éparses pour que nous puissions en tirer quelque conclusion. Seule, l'étude du pouvoir anticomplémentaire chez les cancéreux, faite en collaboration avec le P^r L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg, est assez avancée pour qu'il nous soit possible d'en faire état.

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM CHEZ LES CANCÉREUX. — Ni le chauffage, ni le vieillissement n'exercent la même action sur les sérums normaux et sur les sérums de cancéreux qui paraissent acquérir difficilement un faible pouvoir anticomplémentaire.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés. — Aucun des sérums cancéreux examinés au laboratoire de Protistologie Pathologique ne devint anticomplémentaire après avoir été chauffé à 54-55° ou à 60-62°. Au contraire, après chauffage à 56-57°, 66 p. 100 des sérums de cancéreux acquièrent un pouvoir anticomplémentaire qui, d'ailleurs, resta toujours faible.

Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis. — Nous rapporterons les résultats de 10 examens qui portèrent sur les sérums vieillis de 7 cancéreux.

Localisation du cancer	Âge du Malade	Durée du vieillessement	Taux du P. A. C. du sérum
1. — Cancer gastrique....	54 ans	9 jours	0
2. — Cancer œsophagien..	52 ans	9 jours	0
id. (2 ^e examen).....	»	50 jours	1/10
3. — Cancer gastrique....	72 ans	9 jours	1/10
id (2 ^e examen).....	»	92 jours	1/10
4. — Cancer du sein.....	42 ans	10 jours	1/4
5. — Cancer de l'utérus...	58 ans	30 jours	1/10
id (2 ^e examen).....	»	60 jours	1/1
6. — Cancer de l'anus....	59 ans	78 jours	1/80
7. — Cancer du sein.....	68 ans	11 mois	1/8

De ces faits encore peu nombreux, il est vrai, semblent se dégager les conclusions suivantes : 1° le taux du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement du sérum des cancéreux dépasse exceptionnellement 1/10 et est très rarement aussi élevé que celui des sérums vieillis recueillis sur des sujets normaux; 2° le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement du sérum des cancéreux se développe plus lentement et disparaît peut-être plus rapidement que le pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis des sujets normaux.

Variations “ physiologiques ” du pouvoir anticomplémentaire

Les variations « physiologiques » (1) du pouvoir anticomplémentaire, ont été étudiées sur l'animal, en parti-

(1) Il semble inexact de ne classer que la digestion et l'inanition parmi les facteurs physiologiques qui déterminent les variations du pouvoir anticomplémentaire du sérum. Nous l'avons, cependant, fait en suivant l'exemple de certains auteurs italiens, afin de simplifier la rédaction de ce chapitre.

culier sur le Lapin et sur le Cobaye, mais elles peuvent évidemment se produire également chez l'Homme.

Pendant la période digestive, chez le Lapin et chez le Cobaye, le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum s'élève, pour revenir bientôt à sa valeur primitive (Bruni). Cette élévation du pouvoir anticomplémentaire se manifeste 4 heures après le repas et se maintient pendant 4 heures environ. Elle est plus marquée et disparaît plus tardivement chez le Lapin que chez le Cobaye.

Le jeûne provoque une augmentation progressive du pouvoir anticomplémentaire; mais, s'il se prolonge, le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum tend à revenir à la normale (Tello, Bruni).

La digestion et le jeûne déterminent donc des modifications du pouvoir anticomplémentaire qui s'effacent après quelques heures ou quelques jours. Des variations aussi brusques et aussi transitoires du pouvoir anticomplémentaire peuvent succéder à l'ingestion de certains aliments, aux hémorragies, à l'introduction dans la circulation de certaines substances. Lorsque l'on injecte au Lapin par la voie intraveineuse un sérum hétérologue, un sérum de Cheval ou un sérum de Porc par exemple, le sérum du Lapin subit une élévation de son taux anticomplémentaire qui se manifeste 24 heures après l'injection et disparaît, d'ordinaire, au bout de 3 à 4 jours (La Grutta). Lorsqu'on injecte dans les veines du Lapin de l'argent colloïdal ou du soufre colloïdal on provoque un abaissement du pouvoir anticomplémentaire, qui apparaît en 6 à 24 heures et disparaît après 3 à 4 jours.

Ces diverses variations et leur courte durée permettent de supposer qu'il existe un mécanisme régulateur, qui, après que les différents facteurs ont exercé leur action, ramène le pouvoir anticomplémentaire du sérum à son taux antérieur ou à son taux normal.

Au contraire l'âge, la maladie, la gestation déterminent

des variations du pouvoir anticomplémentaire qui demeurent semi-permanentes ou définitives, sans qu'aucun mécanisme régulateur semble intervenir pour corriger les variations du pouvoir anticomplémentaire dont les modifications sont maintenues par la persistance de la cause qui les a produites.

Conclusions

1. — Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage et le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement des sérums humains subissent des variations qui sont en rapport avec l'âge des sujets, leur rythme sexuel, leur état pathologique. Des variations analogues peuvent être observées pour les sérums d'origine animale.

2. — Le pouvoir anticomplémentaire du sérum peut subir des variations qui sont en relation avec des facteurs physiologiques — jeûne, digestion, nature des aliments ingérés, etc. La courte durée de ces variations laisse supposer que le pouvoir anticomplémentaire du sérum est soumis à un mécanisme régulateur qui est en relation, sans doute, avec le mécanisme régulateur qui règle la fixité de la composition du sérum.

CHAPITRE IV

ACTION DU FROID ET DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

Lorsqu'un sérum a acquis le pouvoir anticomplémentaire peut-il le perdre s'il est soumis à l'action de la chaleur ou à l'action d'une température inférieure à 0°? Le chauffage ou la congélation préalables peuvent-ils empêcher un sérum de devenir anticomplémentaire par vieillissement? Lorsqu'on chauffe un sérum après l'avoir congelé, acquiert-il le même pouvoir anticomplémentaire que s'il est chauffé directement à l'état frais? Telles seront les questions qui seront examinées dans ce chapitre.

Action du froid sur le pouvoir anticomplémentaire

Pour étudier l'action de la congélation sur les sérums anticomplémentaires, on abaissa leur température à -5° , en les plaçant dans la boîte à glace d'un frigidaire où ils furent maintenus pendant 18 à 24 heures en général et, par exception, pendant 8 à 20 jours. La décongélation des sérums, tantôt fut faite rapidement au bain-marie à 38° et tantôt fut obtenue lentement à la température de 18 à 22° .

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE CHAUFFAGE. — Dans un premier groupe de recherches, on a soumis à la congélation des sérums qui avaient acquis le pouvoir anticomplé-

mentaire après avoir été soumis à l'action du chauffage à 54-62° : on voulait ainsi savoir si le pouvoir anticomplémentaire de chauffage pouvait être modifié par l'action du froid. Dans un deuxième groupe de recherches, des sérums frais ont été congelés, puis chauffés : ces expériences avaient pour objet de faire connaître si la congélation préalable d'un sérum modifiait son aptitude à acquérir le pouvoir anticomplémentaire de chauffage.

Action du froid sur le pouvoir anticomplémentaire acquis. — Le pouvoir anticomplémentaire, qu'ont acquis les sérums de Cobaye par chauffage à 54-55°, 56-57° ou 60-62°, ne disparaît jamais lorsqu'ils sont maintenus à — 5° pendant 24 heures. Mais le taux anticomplémentaire de ces sérums peut être modifié par la congélation : il reste le même dans 25 p. 100 des cas ; il s'élève dans 50 p. 100, il s'abaisse dans 25 p. 100 des cas. Lorsque le chauffage a été fait à 54-55° ou à 56-57°, la congélation paraît augmenter plus souvent le pouvoir anticomplémentaire du sérum ; au contraire, lorsque le chauffage a été fait à 60-62°, la congélation diminue peut-être plus facilement le taux anticomplémentaire. Un sérum qui, chauffé à 60-62°, avait acquis un taux anticomplémentaire de 1/4, ne possédait plus qu'un taux anticomplémentaire de 1/2 après avoir maintenu à — 5° pendant 24 heures et, 7 jours plus tard, son taux anticomplémentaire était réduit à 1/1.

La congélation, de même, ne fait pas disparaître le pouvoir anticomplémentaire des sérums humains, mais peut modifier leur taux anticomplémentaire, comme le montrent les exemples suivants :

Origine des sérums	Température de chauffage	Taux du P.A.C. avant congélation	Taux du P.A.C. après congélation
Nouveau-né n° 109	60-62°	1/80	1/80
— n° 117	60-62°	1/64	1/40
— n° 133	60-62°	1/64	1/20

Action du froid sur développement du pouvoir anticomplémentaire. — Les sérums de Cobayes qui ont été congelés acquièrent le pouvoir anticomplémentaire de chauffage aussi facilement que s'ils n'avaient pas été soumis à l'action du refroidissement. Si l'on divise le même sérum en deux fractions dont l'une est directement chauffée à 54-55°, à 56-57° ou à 60-62°, tandis que l'autre est maintenue à — 5° pendant 24 heures avant d'être chauffée, on constate que les mêmes températures, s'exerçant sur les deux fractions du sérum, y font apparaître des pouvoirs anticomplémentaires dont les taux sont identiques.

De même, les sérums humains, lorsqu'ils sont congelés avant d'être chauffés, acquièrent le même pouvoir anticomplémentaire que s'ils sont directement chauffés sans avoir au préalable été maintenus à — 5°.

En résumé, la congélation peut atténuer le pouvoir anticomplémentaire acquis par les sérums qui ont été chauffés, mais elle ne fait pas perdre aux sérums frais leur aptitude à devenir anticomplémentaires sous l'action de la chaleur.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE VIEILLISSEMENT. — Les études sur le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ont été conduites comme celles sur le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. On a recherché si la congélation modifiait le taux anticomplémentaire des sérums qui avaient acquis le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement; on a soumis, d'autre part, à l'action du vieillissement des sérums qui étaient maintenus à — 5°.

Action du froid sur le pouvoir anticomplémentaire acquis. — Les sérums qui sont devenus anticomplémentaires par vieillissement conservent leur pouvoir anticomplémentaire lorsqu'ils sont soumis à l'action de la congélation à — 5° : le tableau suivant résume les résultats obtenus sur 11 sérums qui furent congelés sans avoir été dilués.

Origine du sérum	Durée du vieillessement	Taux du P.A.C. avant congélation	Taux du P.A.C. après congélation
Femme enceinte n° 33	34 jours	1/80	1/80
— n° 34	35 jours	1/80	1/80
— n° 35	35 jours	1/80	1/80
— n° 36	33 jours	1/80	1/80
— n° 38	39 jours	1/80	1/80
— n° 40	29 jours	1/80	1/80
— n° 41	8 jours	1/80	1/80
— n° 42	30 jours	1/80	1/80
— n° 47	16 jours	1/80	1/80
— n° 48	135 jours	1/80	1/80
— n° 49	16 jours	1/80	1/80

La congélation reste de même sans action sur le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement lorsque les sérums sont dilués faiblement — 1 volume de sérum pour 3 volumes d'eau physiologique —, fortement — 1 volume de sérum pour 100 volumes d'eau physiologique —, ou très fortement — 1 volume de sérum pour plus de 200 volumes d'eau physiologique (1).

Action du froid sur le développement du pouvoir anticomplémentaire. — Le même sérum humain fut divisé en deux fractions qui furent simultanément soumises au vieillissement, l'une à $+5^{\circ}$, l'autre à -5° . Au bout du temps voulu, on compara le taux anticomplémentaire de vieillissement des deux échantillons. Nous donnons le résumé de deux des expériences qui furent ainsi faites :

Origine du sérum	Durée du séjour à $+5^{\circ}$	Taux du P.A.C. après séjour à $+5^{\circ}$	Durée du séjour à -5°	Taux du P.A.C. après séjour à -5°
Femme enceinte n° 63	9 jours	1/80	17 jours	1/80
— n° 64	17 jours	1/80	9 jours	1/80

(1) Nous avons jugé inutile de joindre au tableau donné plus haut le résumé des 6 expériences qui furent faites sur les sérums dilués.

La congélation ne modifie donc pas le taux anticomplémentaire acquis par les sérums qui ont été soumis au vieillissement et le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement se développe aussi bien dans les sérums conservés à -5° que dans les sérums conservés à $+5^{\circ}$.

Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire

Le froid atténue d'une façon inconstante le pouvoir anticomplémentaire de chauffage des sérums et ne modifie pas le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. D'autre part, après avoir été congelés, les sérums deviennent aussi facilement anticomplémentaires que s'ils avaient été directement soumis au chauffage ou au vieillissement. La chaleur, au contraire, détruit le pouvoir anticomplémentaire des sérums et empêche ou atténue l'action qu'exerce sur eux le vieillissement.

ACTION DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE NATUREL. — L'action qu'exerce la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire naturel a été étudiée par Zinsser et Johnson (1911), par Kolmer (1916), par Kolmer et Trist (1916), par Kyutoku (1919). Zinsser et Johnson, Kolmer et Trist, Kyutoku ont établi que le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum humain est thermolabile. Il disparaît par le chauffage à $55-56^{\circ}$: Kyutoku a, d'ailleurs, montré que, lorsque le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum est faible, un chauffage de 5 minutes suffit pour le détruire, tandis que si le pouvoir anticomplémentaire est fort, la durée du chauffage doit être

portée à 30 minutes. Kolmer et ses collaborateurs ont prouvé que le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Chien et celui du sérum de Lapin sont également thermolabiles et disparaissent aussi à 55-56°.

En est-il de même pour le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Cheval? Il semblerait facile de répondre à cette question en chauffant des sérums de Cheval, comme l'ont fait Brocq-Rousseu, Nattan-Larrier, G. Roussel et L. Steeg. Mais, en réalité, les sérums de Cheval, qui sont toujours anticomplémentaires à l'état frais, acquièrent après chauffage à 54-55° un pouvoir anticomplémentaire beaucoup plus fort, deviennent moins fortement anticomplémentaires après chauffage à 56-57° et restent rarement anticomplémentaires à 60-62°. L'exemple suivant le démontre.

Origine du sérum	Taux du P. A. C. naturel	Taux du P. A. C. dans le sérum chauffé à		
		54-55°	56-57°	60-62°
Cheval 278	1/16	1/40	1/4	néant
Cheval 1224	1/8	1/40	traces	traces
Cheval 1038	1/4	1/12	1/2	1/1

Faut-il donc admettre que le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Cheval résiste au chauffage à 54-55°, est partiellement thermolabile à 56-57°, est beaucoup plus nettement thermolabile à 60-62°? Faut-il penser, en outre, que le chauffage à 54-55° développe dans le sérum de Cheval un pouvoir anticomplémentaire de chauffage qui s'ajoute au pouvoir anticomplémentaire naturel? Nous croyons qu'on doit donner des faits une explication beaucoup plus simple. Le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Cheval est thermolabile comme celui du sérum des autres animaux; le chauffage le fait disparaître, mais il fait apparaître en même temps un pouvoir anticomplémentaire thermostable qui se développe

d'une façon très marquée à 54-55°, plus faiblement à 56-57°, rarement et légèrement à 60-62° (1).

ACTION DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE CHAUFFAGE. — Suivant Noguchi, le sérum des Chiens lorsqu'il est chauffé à 70° perd en grande partie le pouvoir anticomplémentaire qu'il avait acquis par chauffage à 57-60°, mais il ne le perd en totalité que s'il est chauffé à 90°. Suivant Kolmer et Trist, les sérums de Lapin, de Chien, de Mule peuvent déjà perdre leur pouvoir anticomplémentaire en totalité ou en partie par chauffage à une température qui dépasse 62° et le perdent toujours lorsqu'on les chauffe à une température supérieure à 70°.

Nos recherches ont été faites sur le pouvoir anticomplémentaire de chauffage du Cobaye; dans toutes nos expériences, les sérums qui étaient devenus anticomplémentaires, après avoir été chauffés à 54-55°, 56-57°, ou 60-62°, furent soumis pendant 30 minutes à la température de 70° (2). Nous donnerons le résumé de 3 expériences.

(1) Kolmer et Trist, Kyutoku, après avoir soutenu que le pouvoir anticomplémentaire naturel est thermolabile, ajoutent que le pouvoir anticomplémentaire naturel des sérums qu'ils ont étudiés fut renforcé par l'action de la chaleur. Ils entendent certainement dire ainsi que le pouvoir anticomplémentaire naturel, étant thermolabile, disparaît sous l'action de la chaleur, mais est remplacé par un pouvoir anticomplémentaire thermostable dont le taux peut être plus élevé que celui du pouvoir anticomplémentaire naturel.

(2) On doit rappeler que le pouvoir anticomplémentaire de chauffage ne se développe jamais dans les sérums portés à 70°. Nous citerons l'exemple de deux sérums de nouveau-nés. Le premier sérum, qui avait acquis à 54-55° un P. A. C. de 1/2, à 56-57° un P. A. C. de 1/1, à 60-62° un P. A. C. de 1/16, ne devint pas anticomplémentaire à 70°. Le deuxième sérum qui avait acquis à 54-55° un P. A. C. de 1/1, qui n'était pas devenu anticomplémentaire à 56-57°, mais qui possédait un P. A. C. de 1/8 après avoir été chauffé à 60-62°, ne devint pas davantage anticomplémentaire après chauffage à 70°. De même, deux sérums de Cobayes ne se montrèrent pas anticomplémentaires après chauffage à 70°, alors que le premier avait acquis des taux anticomplémentaires de 1/8 après avoir été porté à 56-57° et à 60-62° et que le deuxième avait acquis des taux anticomplémentaires de 1/4, après chauffage à 54-55°, de 1/4 après chauffage à 56-57°, de 1/1 après chauffage à 60-62°.

Origine du sérum	Températures employées pour le 1 ^{er} chauffage	Taux du P.A.C. après le 1 ^{er} chauffage	Taux du P.A.C. après le 2 ^e chauffage à 70°
Cobaye n° 47	54-55°	1/2	...
	56-57°	1/4	...
	60-62°	1/8	0
	70°	0	...
Cobaye n° 48	54-55°	1/4	...
	56-57°	1/4	...
	60-62°	1/16	0
	70°	0	...
Cobayes n° 50-51 (sérum mélangés)	54-55°	1/2	0
	56-57°	1/4	0
	60-62°	1/2	0
	70°	0	...

Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage du sérum de Cobaye, qu'il se soit développé à 54-55°, à 56-57° ou à 60-62°, disparaît donc après chauffage à 70°.

ACTION DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE VIEILLISSEMENT. — Dans une première série d'expériences, on a étudié l'action qu'exerce la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire qu'ont acquis les sérums soumis au vieillissement. Dans une deuxième série d'expériences, on a cherché à savoir si un chauffage préalable modifie l'aptitude des sérums à devenir anticomplémentaires par vieillissement.

Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire acquis. — Lorsque Noguchi au cours de ses recherches sur la déviation du complément, découvrit que les sérums humains, soumis au vieillissement, acquéraient le pouvoir anticomplémentaire, il signala aussi que ces sérums, après avoir été chauffés à 56°, pendant 15 à 30 minutes cessaient d'être anticomplémentaires. Zinsser et Johnson (1919) insistèrent également sur l'action du chauffage à

56°. Mais Kolmer et Trist avaient affirmé, en 1916, que le chauffage à 55° était aussi efficace que celui à 56° et Noguchi, lui-même, peu de temps après sa découverte, avait établi qu'il suffisait de chauffer à 54° les sérums humains pour faire disparaître leurs propriétés anticomplémentaires. Malgré ces légères divergences entre les conclusions de Noguchi, Zinsser et Johnson, Kolmer et Trist, Kyutoku, leurs travaux sont d'accord pour montrer que le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement du sérum humain est thermolabile et que le chauffage à 54-57° le fait disparaître.

Les deux expériences dont nous donnons le résumé viennent à l'appui de ces conclusions.

Origine du sérum =	Durée de la conservation à + 5° —	P. A. C. après séjour à + 5° —	P. A. C. après chauffage à		
			54-55° —	56-57° —	60-62° —
Femme enceinte n° 44	37 jours	1/80	0	0	0
— n° 32	66 jours	1/80	traces	traces	0

Cependant la plupart des sérums qui ont acquis le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement restent anticomplémentaires s'ils sont chauffés à 54-55°, 56-57° ou à 60-62°.

Origine du sérum —	Durée de la conservation à + 5° —	P. A. C. après séjour à + 5° —	P. A. C. après chauffage à		
			54-55° —	56-57° —	60-62° —
Nouveau-né.....	89 jours	1/20	1/16	...	1/80
Enfant 7 ans.....	46 jours	1/20	1/16	...	traces
Homme 25 ans...	23 jours	1/80	1/4	1/2	traces
— 26 ans...	21 jours	1/80	1/10	1/8	1/2
— 47 ans...	85 jours	1/80	1/80	1/8	1/1
— 62 ans...	48 jours	1/80	1/8	1/4	traces
— 78 ans...	48 jours	1/80	1/8	1/4	traces
Cancéreux 52 ans	50 jours	1/10	...	...	0
— 59 ans	78 jours	1/80	1/16	traces	traces
— 72 ans	92 jours	1/10	1/8	1/1	traces

Les sérums de Cobayes, qui ont acquis le pouvoir anticomplémentaire par vieillissement peuvent également demeurer anticomplémentaires après avoir été chauffés.

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. après séjour à + 5°	P. A. C. après chauffage à		
			54-55°	56-57°	60-62°
Cobaye n° 24.....	46 jours	1/1	1/1	1/8	1/1
— n° 25.....	38 jours	1/4	1/80		1/4
— n° 26.....	38 jours	1/1	1/20	1/4	1/8
— n° 27.....	48 jours	traces	...	1/2	1/1
Cobayes 43-44 (sérums mélangés)	25 jours	1/4	...	1/4	...

Doit-on donc admettre que, à l'encontre des opinions de Noguchi, Zinsser et Johnson, Kolmer et Trist, Kyutoku, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement n'est pas thermolabile? Les deux premières expériences que nous venons de rapporter (sérums des femmes enceintes n° 44 et n° 32) ne laissent pas place au doute : le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement est bien thermolabile. Mais les sérums qui ont été conservés à + 5°, même lorsqu'on les a laissés vieillir à cette température pendant plusieurs mois conservent encore leur aptitude à devenir anticomplémentaires lorsqu'ils sont chauffés à 54-55°, à 56-57°, ou à 60-62° : le pouvoir anticomplémentaire, que l'on constate dans les sérums vieillis lorsqu'ils ont été ultérieurement chauffés, ne correspond donc pas au pouvoir anticomplémentaire de vieillissement qu'ils auraient conservé, mais bien au pouvoir anticomplémentaire de chauffage qu'ils ont acquis. La lecture attentive des deux derniers tableaux fournira des arguments en faveur de cette opinion.

Action de la chaleur sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. — Les seules recherches sur cette question, qui paraissent avoir été faites avant celles de L. Nattan-Larrier et L. Grimard-Steeg

(1937), sont dues à C. Auguste (1934). C. Auguste chauffa des sérums humains à 56°, les additionna d'un antiseptique (sonoxyl) et les laissa vieillir à la température du laboratoire : sur 400 sérums ainsi traités, 3 seulement après 6 semaines de vieillissement possédaient un pouvoir anticomplémentaire élevé.

L. Nattan-Larrier et L. Grimard-Steeg chauffèrent des sérums humains à 56-57°, puis les conservèrent au frigidaire à +5° pendant 8 jours au minimum et pendant 27 mois au maximum. La proportion des sérums qui ne devinrent pas anticomplémentaires fut de 66 p. 100. Le taux anticomplémentaire des sérums — qui malgré le chauffage devinrent anticomplémentaires par vieillissement — fut dans 20 p. 100 des cas faible, dans 7 p. 100 des cas moyen, dans 7 p. 100 des cas fort (1). Ces chiffres prennent toute leur valeur lorsqu'on se souvient que 90 p. 100 des sérums humains, vieillis à +5°, acquièrent un pouvoir anticomplémentaire qui, toujours très fort, possède un taux qui atteint ou même dépasse 1/80. Nous groupons dans un même tableau les résultats obtenus par L. Nattan-Larrier et L. Grimard-Steeg et 10 résultats nouveaux qui ont confirmé ceux observés antérieurement.

Origine des sérums chauffés à 56-57°	Durée de la conservation à + 5°	Taux anticomplémentaire après vieillissement
Nouveau-né n° 72.....	5 mois	1/2
— n° 87.....	4 mois	0
— n° 88.....	13 jours	1/1
Enfant n° 69.....	5 mois	0
— n° 70.....	13 jours	0
— n° 71.....	7 jours	0
— n° 73.....	8 jours	0
— n° 74.....	5 mois	1/4
— n° 75.....	8 jours	0
— n° 76.....	8 jours	0
— n° 77.....	14 jours	1/1

(1) Le taux de 1/8 est le plus élevé qu'aient acquis les sérums chauffés, puis soumis au vieillissement à + 5°.

Origine des sérums chauffés à 56-57°	Durée de la conservation à + 5°	Taux anticoimplémentaire après vieillissement
Enfant n° 77.....	5 mois	1/1
— n° 78.....	14 jours	0
— n° 79.....	14 jours	0
— n° 80.....	14 jours	0
— n° 81.....	14 jours	0
— n° 81.....	5 mois	1/1
— n° 82.....	4 mois 1/2	1/8
Adulte n° 15.....	3 mois	1/1
— n° 16.....	5 mois	0
Vieillard n° 24.....	13 mois	1/1
— n° 1.....	27 mois	0
Femme enceinte n° 28.....	22 jours	0
— n° 29.....	30 jours	0
— n° 30.....	30 jours	0
— n° 38.....	13 jours	0
— n° 40.....	22 jours	0
— n° 43.....	22 jours	0
— n° 44.....	22 jours	0
— n° 45.....	22 jours	0
Cancéreux n° 12.....	15 mois	0
— n° 21.....	13 mois	0
— n° 24.....	8 jours	0

Les résultats du vieillissement après chauffage sont encore plus frappants lorsque l'on compare le taux anticoimplémentaire de deux échantillons du même sérum dont l'un a été placé au frigidaire à l'état frais, tandis que l'autre a été conservé à +5° après avoir, d'abord, été chauffé à 56-57°. Nous donnons le résumé de 3 expériences ainsi conduites.

Origine du sérum	Durée de conservation	Taux anticoimplémentaire du même sérum conservé	
		sans chauffage	après chauffage
Femme enceinte n° 40, 24 ans; gross. 7 mois.	22 jours	1/80	0
Femme enceinte n° 43, 25 ans; gross. 8 mois.	28 jours	1/80	0
Femme enceinte n° 44, 16 ans; gross. 9 mois.	30 jours	1/80	0

En réalité tous les sérums, soumis au vieillissement après avoir été chauffés à 56-57° ne se comportent pas de la même façon (L. Nattan-Larrier et L. Grimard-Steeg).

I. — Dans un premier groupe se rangent les sérums qui ne sont pas devenus anticomplémentaires par le chauffage à 56-57°. En règle générale ces sérums ne deviennent pas anticomplémentaires par vieillissement à + 5°. Mais quelques-uns d'entre eux peuvent cependant acquérir un faible pouvoir anticomplémentaire par un vieillissement prolongé, comme le montrent les deux exemples suivants.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à 56-57°	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. du sérum vieilli après chauffage
—	—	—	—
Enfant n° 81	0	14 jours	0
—	—	5 mois	1/1
Cancéreux n° 12	0	4 mois	1/1
—	—	12 mois	1/2

II. — Un second groupe comprend les sérums qui ont acquis le pouvoir anticomplémentaire après avoir été chauffés à 56-57°. Le plus grand nombre d'entre eux perdent leur pouvoir anticomplémentaire de chauffage, sans acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à 56-57° et avant vieillissement	Durée de conservation à + 5°	P. A. C. après vieillissement
—	—	—	—
Femme enceinte n° 26	1/1	30 jours	0
Femme enceinte n° 27	1/4	30 jours	0
Femme enceinte n° 28	1/8	30 jours	0
Femme enceinte n° 29	1/8	30 jours	0
Femme enceinte n° 30	1/8	30 jours	0
Enfant n° 75	1/1	22 jours	0
Cancéreux n° 24	1/1	8 jours	0

La disparition du pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans les sérums soumis au vieillissement se fait, d'ail-

leurs, souvent lentement comme le montre l'exemple suivant.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à 56-57° et avant vieillessement	Durée de conservation à + 5	P. A. C. après vieillessement
Enfant n° 71.....	1/2	12 jours 29 jours 36 jours	1/1 traces traces

Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage pourra donc ne subir aucune modification dans les sérums que l'on examinera peu de temps après les avoir placés au frigidaire, mais on doit estimer qu'en forte proportion, sinon en totalité, ces sérums perdront ultérieurement leur pouvoir anticomplémentaire. Nous donnons ici l'exemple d'un sérum dont le pouvoir anticomplémentaire de chauffage n'avait subi aucune modification après qu'il eût été conservé pendant 12 jours à + 5°.

Origine du sérum	Taux du P. A. C. après chauffage à 56-57° et avant vieillessement	Durée de la conservation à + 5°	Taux du P. A. C. après vieillessement
Nouveau-né n° 44	1/2	12 jours	1/2

En résumé, la plupart des sérums humains qui n'ont acquis le pouvoir anticomplémentaire par chauffage à 56-57° ne deviennent pas anticomplémentaires, s'ils sont soumis au vieillissement à + 5°; par exception, ces sérums peuvent acquérir tardivement un pouvoir anticomplémentaire dont le taux reste toujours faible. Quant aux sérums humains que le chauffage à 56-57° a rendus anticomplémentaires, ils perdent progressivement leur pouvoir anticomplémentaire de chauffage sans que le vieillissement les rende anticomplémentaires.

Conclusions

1. — La congélation ne modifie pas le taux anticomplémentaire des sérums qui ont été traités par le vieillissement; elle peut, au contraire, diminuer le taux du pouvoir anticomplémentaire de chauffage. La congélation préalable n'exerce aucune action sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou du pouvoir anticomplémentaire de chauffage.

2. — Le pouvoir anticomplémentaire naturel et le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement disparaissant par le chauffage à 56-57° (pouvoirs anticomplémentaires dits thermolabiles). Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage ne disparaît qu'à 70° (pouvoir anticomplémentaire dit thermostable).

3. — Le chauffage préalable possède une action empêchante sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Cette action empêchante tantôt est absolue, — en particulier lorsqu'elle s'exerce sur les sérums des femmes enceintes ou des sujets cancéreux — et tantôt elle demeure relative et atténuée seulement le taux du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

CHAPITRE V

HYPOTHÈSES ET DISCUSSIONS SUR L'ORIGINE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM

Deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer l'origine du pouvoir anticomplémentaire. L'action anticomplémentaire que possèdent les sérums normaux pourrait être due, soit à une *substance spécifique* qui entrerait dans leur constitution, soit à une *propriété nouvelle* qu'acquerraient leurs composants, après avoir été modifiés par certains agents physiques ou chimiques. La première hypothèse paraît la plus simple, mais elle est, en réalité, celle qu'il est le plus difficile d'admettre; la seconde hypothèse se fonde sur des notions plus complexes que la première, mais semble être la seule qui tienne compte de certains faits mis en lumière par de récentes recherches.

Le pouvoir anticomplémentaire est-il dû à l'existence d'une substance anticomplémentaire ?

Le pouvoir anticomplémentaire apparaît soit dans les sérums qui sont soumis à l'action de la chaleur, soit dans certains sérums — le sérum humain, le sérum de Cheval ou le sérum de Cobaye, par exemple — qui sont conservés pendant assez longtemps à la température du laboratoire ou à la température de la glacière. Dans le premier cas, le pouvoir anticomplémentaire résiste aux températures inférieures à 70° et correspondrait, suivant Noguchi, à une

substance anticomplémentaire relativement thermostable, dans le second cas, le pouvoir anticomplémentaire, est détruit à 54° et serait, suivant Noguchi, dû à une substance anticomplémentaire thermolabile.

EXISTE-T-IL UNE SUBSTANCE ANTICOMPLÉMENTAIRE THERMOSTABLE? — Pour isoler la substance anticomplémentaire thermostable, à laquelle il donna le nom de « protectine », Noguchi traita du sang de Chien ou de Mouton par l'éther, puis par le benzol et enfin par l'acétone (1). La « protectine » chauffée à 90° conservait toute son activité qui était seulement diminuée par les températures comprises entre 90 et 150°. Ajoutée à un mélange hémolytique, composé par exemple d'alexine, de globules rouges de Mouton et de sérum antimouton, la « protectine » empêchait l'hémolyse de se produire.

Les travaux de Noguchi (1906) furent critiqués par Zinsser et Johnson (1911), puis par Kolmer (1916). On peut admettre aujourd'hui que Noguchi avait extrait du sang total des lipoides qui pouvaient empêcher l'hémolyse des globules rouges sensibilisés, mais qu'il n'avait pas isolé une substance spécifique qui donnait leur propriété aux sérums anticomplémentaires.

Tandis que Noguchi avait essayé d'isoler la substance anticomplémentaire, d'autres sérologistes, admettant que l'existence de cette substance était démontrée, cherchè-

(1) Pour obtenir la « protectine », Noguchi traitait dans un appareil à agitation 200 cc. de sang total — et non de sérum — par 400 cc. d'éther. L'extrait éthéré était décanté, puis l'éther était évaporé. Le produit de dessiccation était repris une première fois par le benzol bouillant et une seconde fois à froid par l'acétone. La fraction insoluble dans l'acétone ne possédait aucune action protectrice, tandis que la fraction soluble dans l'acétone contenait la « protectine ». Cette dernière fraction de l'extrait était débarrassée de l'acétone, filtrée sur papier et enfin émulsionnée dans 40 cc. d'eau physiologique. L'extrait, ainsi dilué, correspondait à la « protectine », telle que Noguchi l'employa dans ses expériences. Noguchi a rappelé dans son mémoire que Landsteiner et von Eisler (1904 et 1905) avaient déjà extrait des globules rouges et du sérum des lipoides qui possédaient un pouvoir antihémolytique.

rent à préciser l'état dans lequel elle se trouvait dans le sérum. On savait que les sérums devenaient anticomplémentaires, lorsqu'ils étaient inactivés par la chaleur : une corrélation semblait donc exister entre la disparition de l'alexine à 54-60° et l'apparition du pouvoir anticomplémentaire. Deux théories essayèrent d'expliquer les rapports qui pouvaient unir les deux phénomènes : l'une peut être désignée sous le nom de théorie de Müller, l'autre peut recevoir la dénomination de théorie d'Ehrlich et de Sachs.

La théorie de Müller. — La substance anticomplémentaire serait déjà contenue dans les sérums frais, mais elle ne pourrait pas y être décelée parce qu'elle serait fixée — et pour ainsi dire neutralisée — par l'alexine. Lorsque les sérums seraient soumis à l'action de la chaleur entre 54 et 62°, l'alexine disparaissant, la substance anticomplémentaire serait mise en liberté et pourrait être décelée par les méthodes appropriées.

Si la théorie de Müller était exacte, tout sérum qui, à l'état frais, serait dépourvu d'alexine devrait posséder le pouvoir anticomplémentaire. Il en est bien ainsi pour le sérum de Cheval qui ne contient jamais d'alexine et qui est toujours anticomplémentaire. Au contraire, les sérums humains, dans les cas où ils ne contiennent pas d'alexine, sont assez rarement anticomplémentaires (1). Mais, même si tous les sérums qui ne sont pas alexiques étaient anticomplémentaires, on ne pourrait de ce fait tirer un argument décisif en faveur de la théorie de Müller. En effet, le pouvoir anticomplémentaire que l'on peut rencontrer dans les sérums frais ne résiste pas au chauffage à 56-57°, tandis que le pouvoir anticomplémentaire qui apparaît dans les sérums inactivés par la chaleur est thermostable.

De nombreuses études expérimentales ont permis, d'autre part, de mettre à l'épreuve l'hypothèse de Müller : elles

(1) Les sérums humains qui ne contiennent pas d'alexine deviennent anticomplémentaires, comme les sérums alexiques, lorsqu'ils sont soumis à l'action de chauffage à 54-62°.

sont fondées sur la recherche du pouvoir anticomplémentaire, dans des sérums qui avaient été inactivés sans qu'on ait eu recours au chauffage à 54-62°. Trois méthodes furent employées pour déterminer la disparition de l'alexine : le chauffage à basse température, l'agitation et le kaolinage.

I. — Müller, Ehrlich et Sachs, Neisser et Friedmann avaient affirmé que, chauffés à 49-50°, les sérums étaient inactivés, mais ne devenaient pas anticomplémentaires : l'alexine d'un sérum pouvait donc disparaître sans qu'aucune trace de substance anticomplémentaire fut mise en liberté. Il nous a été possible, de constater, à notre tour, avec L. Nattan-Larrier et L. Steeg que le chauffage à 49°, maintenu pendant 30 minutes ou mieux pendant 45 minutes, fait disparaître l'alexine des sérums, mais n'y fait pas apparaître le pouvoir anticomplémentaire thermostable; les mêmes sérums, au contraire, chauffés à 54-62°, sont inactivés et deviennent anticomplémentaires. Nous résumerons 5 expériences faites sur des sérums de femmes enceintes (1).

Origine du sérum	Taux d'alexine avant chauffage à 49°	Taux d'alexine après chauffage à 49°	P.A.C. après chauffage à 49°
F. E. n° 87, 31 ans; gross. 8 mois.	1/2	0	0
F. E. n° 88, 16 ans; gross. 9 mois.	traces	0	0
F. E. n° 91, 36 ans; gross. 8 mois.	1/2	0	0
F. E. n° 95, 19 ans; gross. 8 mois.	1/4	0	0
F. E. n° 96, 20 ans; gross. 9 mois.	1/8	0	0

(1) Rappelons que le chauffage à 49° du sérum des femmes enceintes permet d'y déceler dans 50 p. 100 des cas un pouvoir anticomplémentaire naturel qui est thermolabile et ne peut être confondu avec le pouvoir anticomplémentaire de chauffage qui résiste à l'action de la chaleur. Rappelons également qu'il faut chauffer ces sérums à 56-57° pour reconnaître que leur pouvoir anticomplémentaire est thermolabile : cette température, en effet, ne développe pas le plus souvent le pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans le sérum des femmes enceintes.

Nous donnerons également le résumé de deux expériences faites sur le Cobaye, quoique les sérums de Cobaye, chauffés à 49° pendant 30 minutes ne perdent pas en totalité leur alexine.

Origine du sérum	Taux d'alexine avant chauffage à 49°	Taux d'alexine après chauffage à 49°	P.A.C. après chauffage à 49°
—	—	—	—
C. 108	1/10	1/1	0
C. 109 }			
C. 110	1/8	1/2	0

Des échantillons de tous les sérums qui avaient été chauffés à 49° — sérums humains et sérums de Cobaye — furent, d'autre part, inactivés par la chaleur dans les conditions ordinaires : tous les sérums ainsi chauffés purent acquérir le pouvoir anticomplémentaire. Cette contre-épreuve démontra que, si nos sérums n'étaient pas devenus anticomplémentaires après chauffage à 49°, ce n'était pas parce que leur composition était anormale et parce qu'ils étaient privés de « substance anticomplémentaire ».

II. — Depuis les travaux de Zeissler, M. Jacoby et A. Schutz, P. Courmont et A. Dufourt, Ritz, H. Schmidt, M. et M. Jacoby, on sait que l'on peut faire disparaître l'alexine d'un sérum en le soumettant à une agitation rapide et prolongée, au contact de l'air, à une température de 37-38°. On devait donc se demander si le pouvoir anticomplémentaire apparaîtrait dans des sérums inactivés par cette méthode.

Nous résumerons 4 expériences faites en inactivant par l'agitation 8 sérums de femmes enceintes.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant agitation	Durée de l'agitation	Taux de l'alexine après agitation	P. A. C. après agitation
F. E. n° 69, 38 ans; gross. 6 mois.	1/10	13 heures	0	0
F. E. n° 70, 24 ans; gross. 9 mois.				
F. E. n° 72, 31 ans; gross. 8 mois.	1/8	5 heures	0	0
F. E. n° 73, 30 ans; gross. 6 mois.	1/8	5 heures	0	0
F. E. n° 74, 19 ans; gross. 9 mois.				
F. E. n° 76, gross. 8 mois.	1/16	11 heures	0	0
F. E. n° 77, gross. 8 mois.				
F. E. n° 78, gross. 8 mois.				

D'autre part, 4 expériences furent faites sur 8 sérums de Cobaye.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant agitation	Durée de l'agitation	Taux de l'alexine après agitation	P. A. C. après agitation
C. n° 70	1/32	3 heures	0	0
C. n° 73	1/32	6 heures	0	0
C. n° 73 <i>bis</i>				
C. n° 73 <i>ter</i>	1/32	5 heures	0	0
C. n° 74	1/20	9 heures	0	0

Dans chacune des 4 expériences faites sur des sérums humains, des échantillons de sérum qui n'avaient pas été agités furent chauffés à 54°. Les sérums des femmes enceintes 69 et 70 mélangés et le sérum de la femme enceinte

72 ne devinrent pas anticomplémentaires par le chauffage; au contraire, les sérums des femmes enceintes 73 et 74 mélangés acquirent un pouvoir anticomplémentaire de $1/2$; enfin le pouvoir anticomplémentaire qui se développa après chauffage dans les sérums des femmes enceintes 76, 77 et 78 mélangés s'éleva à $1/4$. La contre-épreuve n'avait donc donné aucun renseignement pour les sérums des femmes enceintes 69, 70 et 72; mais, pour les autres sérums, elle avait démontré que le pouvoir anticomplémentaire n'apparaissait pas après disparition de l'alexine par agitation, tandis que l'inactivation par le chauffage à 54° était capable de provoquer son apparition.

La contre-épreuve par le chauffage à 57° fut plus démonstrative encore pour les sérums de Cobaye qui avaient été soumis à l'agitation. Après chauffage, le seul sérum qui ne devint pas anticomplémentaire fut le sérum du Cobaye 74; le taux anticomplémentaire des sérums des Cobayes 73, 73 *bis* 73 *ter* (sérums mélangés) et du Cobaye 75 fut de $1/1$; le taux anticomplémentaire du sérum du Cobaye 70 fut de $1/4$. Cinq des sérums, qui n'étaient pas devenus anticomplémentaires lorsque leur alexine avait disparu par agitation, avaient donc pu acquérir le pouvoir anticomplémentaire par l'action de la chaleur.

III. — Le troisième procédé employé pour inactiver les sérums, sans les soumettre au chauffage, fut le kaolinage. Nous reviendrons ultérieurement sur ce procédé, que nous décrirons alors plus complètement que nous ne pouvons le faire dans ce chapitre. Il nous suffira de dire ici que l'inactivation par ce procédé est obtenue en mélangeant le sérum avec du kaolin lavé et finement pulvérisé dans la proportion de 10 cgr. de kaolin pour 1 cc. de sérum. On maintient le contact du kaolin et du sérum pendant 16 heures et l'on centrifuge pour séparer le sérum du kaolin.

Nos expériences ont porté sur 7 sérums humains qui

furent groupés en 5 expériences. Dans tous ces sérums, le kaolinage fit disparaître toute trace d'alexine et l'on put constater que l'inactivation ne s'était pas accompagnée de l'apparition du pouvoir anticomplémentaire (1).

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant kaolinage	Taux de l'alexine après kaolinage	P. A. C. après kaolinage
F. E. n° 75, 18 ans; gross. 4 mois.	1/10	0	0
F. E. n° 81, 26 ans; gross. 6 mois.	1/2	0	0
F. E. n° 82, 25 ans; gross. 8 mois.	1/4	0	0
F. E. n° 83, 34 ans; gross. 7 mois.	1/4	0	0
F. E. n° 84, 19 ans; gross. 7 mois.	1/8	0	0
F. E. n° 85, 33 ans; gross. 7 mois.			
F. E. n° 86, 28 ans; gross. 6 mois.			

La contre-épreuve par le chauffage à 54° fut faite pour les 7 sérums. Le pouvoir anticomplémentaire ne se développa pas dans les sérums 75, 81, 82 et 83. Dans le mélange des sérums 84, 85 et 86 apparut, au contraire, un pouvoir anticomplémentaire dont le taux s'éleva à 1/4.

En résumé, les recherches faites en inactivant les sérums soit par le chauffage à 49°, soit par l'agitation, soit par le kaolinage, fournissent des arguments qui nous paraissent désisifs contre la théorie de Müller. Si les sérums deviennent anticomplémentaires après avoir été chauffés à 54-62°, ce n'est pas parce que le chauffage en détruisant

(1) En réalité, dans le mélange des sérums 84, 85 et 86 et dans le sérum 75 apparurent de très légères traces de pouvoir anticomplémentaire, dont le taux était inférieur à 1/1.

leur alexine a libéré la substance anticomplémentaire qu'ils contenaient déjà sans qu'il fût possible de la déceler, c'est parce que la chaleur en provoquant des modifications physico-chimiques des composants de ces sérums, a déterminé l'apparition du pouvoir anticomplémentaire.

Théorie d'Ehrlich et de Sachs. — Suivant Ehrlich et suivant Sachs, la propriété des sérums anticomplémentaires serait bien dûe à l'existence d'une substance spéciale. Mais cette substance ne se formerait que lorsque les sérums seraient chauffés à 54-62° : elle représenterait l'alexine qui, après avoir subi l'action de la chaleur, aurait perdu une partie de ses propriétés. Ehrlich et Sachs ont désigné cette alexine modifiée sous le nom de « complémentoïde » (1).

Est-il donc possible d'admettre que le pouvoir anticomplémentaire des sérums, inactivés à 54-62°, est dû à la transformation de l'alexine qu'ils contenaient à l'état frais?

Si la théorie d'Ehrlich et de Sachs était exacte, les sérums qui ne contiennent pas d'alexine ne deviendraient pas anticomplémentaires lorsqu'ils sont soumis au chauffage à 54-62°. Il est facile de s'en assurer : les sérums de Chevaux ne contiennent pas d'alexine, certains sérums humains en sont également dépourvus; le pouvoir anticomplémentaire de chauffage ne devrait se développer ni dans les uns, ni dans les autres.

Les recherches de D. Brocq-Rousseu, L. Nattan-Larrier, G. Roussel, L. Steeg, leur ont permis d'étudier de nombreux sérums de Chevaux; tous ces sérums se présentent dans les mêmes conditions : aussi nous contenterons-nous de résumer les résultats fournis par 9 d'entre eux.

(1) L'alexine, transformée en complémentoïde, conserverait une partie de ses propriétés haptophoriques, mais perdrait ses propriétés zymotoxiques. Elle pourrait encore se fixer, mais ne pourrait plus, en présence d'un sérum hémolytique correspondant, déterminer la lyse des globules rouges.

Origine des sérums	Taux d'alexine	Taux du P. A. C. après chauffage à		
		54-55°	56-57°	60-62°
Cheval 222.....	0	1/4	1/1	0
Cheval 223.....	0	1/8	1/1	0
Cheval 224.....	0	1/4	0	0
Cheval 278.....	0	1/40	0	0
Cheval 551.....	0	1/2	1/1	...
Cheval 1038.....	0	1/20	1/2	1/1
Cheval 1182.....	0	1/1	1/1	...
Cheval 1224.....	0	1/40	0	0
Cheval 1278.....	0	1/4	1/1	...

Ces 9 sérums, chauffés à 54-55°, ont donc acquis le pouvoir anticomplémentaire. Le chauffage à 56-57° a provoqué l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans 6 sérums. Le chauffage à 60-62° n'a déterminé que dans un seul sérum le développement d'un faible pouvoir anticomplémentaire. L'absence d'alexine n'a donc empêché aucun sérum de Cheval de devenir anticomplémentaire.

Les sérums humains, provenant d'adultes, peuvent, par exception, ne pas contenir d'alexine; les sérums de nouveau-nés en sont totalement dépourvus, au moins dans 33 p. 100 des cas. L'étude de ces derniers sérums donne donc des renseignements précis sur les relations qui peuvent exister entre l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire de chauffage des sérums.

Le tableau suivant résume les recherches faites sur 8 sérums de nouveau-nés, qui ne contenaient pas d'alexine.

Origine du sérum	Taux de l'alexine	Taux du P. A. C. après chauffage à		
		54-55°	56-57°	60-62°
Nouveau-né 97	0	1/20	1/1	1/4
Nouveau-né 98	0	1/8	1/1	1/2
Nouveau-né 103	0	1/1	...	...
Nouveau-né 104	0	1/2	...	...
Nouveau-né 105	0	1/8	1/2	1/80
Nouveau-né 106	0	0	0	1/1
Nouveau-né 107	0	0	0	1/1
Nouveau-né 609	0	1/2	1/1	1/16

Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage peut donc se développer dans des sérums humains qui ne contiennent pas d'alexine (1).

Si le pouvoir anticomplémentaire correspondait à une transformation de l'alexine produite par la chaleur, il ne devrait pas pouvoir se développer dans les sérums qui sont privés artificiellement de leur alexine. On a donc essayé de provoquer l'apparition du pouvoir anticomplémentaire de chauffage, dans des sérums inactivés, soit par l'agitation, soit par le kaolinage.

I. — La technique employée pour inactiver les sérums par agitation a été celle que nous avons déjà décrite. On inactiva par le battage 5 sérums de femmes enceintes, groupés en 3 expériences; puis ces sérums furent soumis au chauffage à 54-55°, 56-57°, 60-62°.

Origine du sérum	Taux de l'alexine dans le sérum		P. A. C. du sérum					
	non battu	battu	non battu chauffé à			battu chauffé à		
			54-55°	56-57°	60-62°	54-55°	56-57°	60-62°
F. E. n° 69, 38 ans; gross. 6 mois ..	1/10	0	0	0	0	1/2	0	0
F. E. n° 70, 24 ans; gross. 9 mois ..	1/16							
F. E. n° 72, 31 ans; gross. 9 mois ..	1/8	0	0	0	0	1/1	0	0
F. E. n° 73, 30 ans; gross. 6 mois ..	1/10	0	1/1	0	0	1/2	0	0
F. E. n° 74, 19 ans; gross. 9 mois ..	1/0							

(1) Le pouvoir anticomplémentaire peut inversement ne pas se développer dans des sérums riches en alexine qui sont soumis au chauffage à 54-55°, 56-57°, 60-62°. Les sérums des femmes enceintes n° 75, 81, 82, 83 qui possédaient des taux d'alexine de 1/10, 1/2, 1/4 et 1/4 n'acquirent pas le pouvoir anticomplémentaire par chauffage aux trois températures. De même, sur 48 sérums de Cobaye dont le taux d'alexine variait de 1/8 à 1/32, nous en avons relevé 19, soit 57 p. 100, qui ne devinrent pas anticomplémentaires après avoir été chauffés à 54-55°. Dans une autre série d'expériences sur 18 sérums de Cobaye riches ou très riches en alexine qui furent chauffés à 56-57°, nous en avons vu 4, soit 22 p. 100, qui ne devinrent pas anticomplémentaires.

Dans ces 5 sérums, la disparition de l'alexine par battage n'a pas empêché le pouvoir anticomplémentaire d'apparaître sous l'action du chauffage à 54-55°. Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage a paru même se développer plus facilement dans les sérums qui avaient été inactivés par battage que dans les sérums directement traités par la chaleur.

La même recherche a été répétée dans les mêmes conditions pour 10 sérums de Cobaye, groupés dans 5 expériences.

Origine du sérum	Taux de l'alexine dans le sérum		P. A. C. du sérum					
	non battu	battu	non battu chauffé à			battu chauffé à		
			54-55°	56-57°	60-62°	54-55°	56-57°	60-62°
C. 70.	1/32	0	...	1/4	...	...	1/4	...
C. 71 et <i>bis</i>	1/32	0	...	0	...	...	0	...
C. 73, <i>bis</i> , et <i>ter</i> .	1/20	0	...	1/1	...	...	1/1	...
C. 74.	1/32	0	...	0	...	...	0	...
C. 75, <i>bis</i> et <i>ter</i> ..	1/20	0	1/1	1/1	0	1/1	1/1	1/1

Tous les sérums de Cobaye, qui avaient acquis le pouvoir anticomplémentaire lorsqu'ils avaient été directement chauffés à l'état frais, l'ont également acquis lorsqu'ils ont été chauffés après avoir perdu leur alexine sous l'action du battage : le taux anticomplémentaire des sérums a été égal dans les deux cas, 2 fois sur 3; un des sérums est devenu anticomplémentaire à 60-62° après battage, alors qu'il ne l'était pas devenu après chauffage direct.

II. — Le kaolinage fut employé, suivant la technique que nous avons déjà sommairement décrite, pour inactiver 7 sérums humains. Dans chacune des 5 expériences qui furent faites, le pouvoir anticomplémentaire de chauffage des sérums fut recherché et dosé, d'une part, avant le kaolinage et d'autre part après qu'ils eussent été kaolinés. Le chauffage ne détermina l'apparition du pouvoir anticomplémentaire ni avant, ni après le kaolinage dans 4 de ces sérums. Au contraire, dans une cinquième expérience,

3 sérums qui avaient été mélangés, se montrèrent susceptibles d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire, lorsqu'ils furent soumis à l'action de la chaleur, qu'ils eussent été chauffés à l'état frais ou après avoir été inactivés par le kaolin.

Origine du sérum	Taux d'alexine		P. A. C. du sérum					
	avant kaolin	après kaolin	non kaoliné à			kaoliné à		
			54-55°	56-57°	60-62°	54-55°	56-57°	60-62°
F. E. N° 84, 19 ans ; gross. 7 mois.								
F. E. N° 85, 23 ans ; gross. 7 mois.	1/8	0	1/2	1/1	1/1	1/1	1/4	1/1
F. E. N° 86, 28 ans ; gross. 6 mois.								

Les sérums de 11 Cobayes furent soumis au chauffage sans avoir été inactivés par le kaolin et après l'avoir été.

Origine du sérum	Taux d'alexine		P. A. C. du sérum					
	avant kaolin	après kaolin	non kaoliné à			kaoliné à		
			54-55°	56-57°	60-62°	54-55°	56-57°	60-62°
C. 86 bis et 87.	1/10	0	1/2	1/2	1/1	0	0	0
C. 88 et bis ...	1/8	0	1/40	1/80	1/32	1/16	1/40	1/64
C. 89 et bis ...	1/8	0	1/4	1/10	1/10	1/10	1/4	1/16
C. 93 et 94. ...	1/20	0	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/2
C. 98 et 99. ...	1/10	0	1/4	1/2	1/2	1/2	1/2	0

Dans 4 de ces 5 expériences, le pouvoir anticomplémentaire de chauffage se développa donc dans les sérums inactivés par le kaolinage aussi bien que dans les sérums non kaolinés. Dans une seule expérience, le kaolinage du sérum l'empêcha d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire sous l'action de la chaleur (1).

(1) Les sérums traités par le kaolin subissent sans aucun doute des modifications multiples et complexes. C'est à l'absorption d'une partie de leurs composants qu'il faut certainement attribuer la différence que présente le taux anticomplémentaire des sérums soumis à la même température, suivant qu'ils sont chauffés directement ou chauffés après avoir été kaolinés.

En résumé, la recherche du pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans les sérums inactivés soit par battage, soit par kaolinage, démontre que la disparition de l'alexine dans ces sérums ne les empêche pas d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire. Les faits, que nous avons résumés, semblent donc fournir des arguments contre la théorie d'Ehrlich et de Sachs (1).

EXISTE-T-IL UNE SUBSTANCE ANTICOMPLÉMENTAIRE THERMOLABILE? — Tandis que Noguchi avait essayé d'extraire la substance anticomplémentaire thermostable en isolant les lipoïdes du sérum, Zinsser et Johnson (1911) pensèrent que la substance anticomplémentaire thermolabile était contenue dans les globulines du sérum et tentèrent de l'isoler en traitant les sérums vieillis par le sulfate d'ammoniaque (2). Suivant Zinsser et Johnson, une solution de globuline dans l'eau physiologique, ramenée au même volume que le sérum dont ils l'avaient extraite, possédait le même pouvoir anticomplémentaire que ce sérum lui-même.

(1) Nous avons surtout insisté dans ce chapitre sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans les sérums qui, à l'état naturel, ne contiennent pas d'alexine ou dans les sérums qui ont été privés artificiellement de leur alexine. Mais il faut aussi noter que le taux du pouvoir anticomplémentaire, qu'acquîèrent les sérums lorsqu'ils sont chauffés, n'est pas proportionnel à leur richesse en alexine, ce qui, devrait s'observer si la « substance anticomplémentaire » n'était qu'une alexine modifiée par l'action de la chaleur. Signalons, par exemple, que le taux d'alexine ne dépassait pas 1/20 dans aucun des sérums de Cobayes qui, chauffés à 54-55° devinrent fortement anticomplémentaires et qu'il était supérieur à 1/20 dans 38 p. 100 des sérums qui, chauffés à la même température, ne devinrent pas anticomplémentaires. De même, le taux d'alexine ne dépassait 1/20 que dans 20 p. 100 des sérums de Cobayes qui, après avoir été chauffés à 56-57°, devinrent fortement ou très fortement anticomplémentaires et le taux d'alexine était supérieur à 1/20 dans tous les sérums de Cobayes qui, après avoir été chauffés à 56-57° n'acquîrent pas le pouvoir anticomplémentaire. Nous avons, d'ailleurs, pu faire des constatations de même ordre sur les sérums humains.

(2) Zinsser et Johnson diluaient 5 cc. de sérum avec 45 cc. d'eau physiologique et ajoutaient 50 cc. d'une solution saturée de sulfate d'ammoniaque. Les globulines précipitées étaient recueillies par filtration sur papier. Elles étaient reprises sur filtre par l'eau physiologique et précipitées à nouveau par le sulfate d'ammoniaque. Le précipité de globulines était lavé à l'eau froide et remis en solution dans 30 cc. d'eau physiologique à 8,5 p. 1.000.

La solution de globuline chauffée à 50° conservait son pouvoir anticomplémentaire, mais elle le perdait lorsqu'elle était chauffée à 56-60°.

Ces expériences furent reprises en 1915 par Kolmer qui n'accepta pas les conclusions de Zinsser et Johnson. Pour Kolmer, le pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis n'appartient pas en propre à leurs globulines, mais se retrouve dans les autres protéines de ces sérums. Pour Kolmer, les solutions de protéines, lorsque leur concentration est suffisante, possèdent des propriétés anticomplémentaires, même lorsque ces protéines n'ont pas été obtenues en partant d'un sérum anticomplémentaire. Enfin, suivant Kolmer, le pouvoir anticomplémentaire des globulines, obtenues en partant des sérums vieillis, n'est pas thermolabile. Zinsser et Johnson, suivant Kolmer, n'auraient donc pas obtenu la substance qui donne leur pouvoir anticomplémentaire aux sérums vieillis; ils auraient seulement démontré que les globulines de ces sérums pouvaient exercer une action anticomplémentaire.

Le pouvoir anticomplémentaire des sérums vieillis, comme le pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés, ne peut être dû à une « substance anticomplémentaire » qui existerait à l'état dissimulé dans les sérums frais et ne pourrait être décelée que lorsque le vieillissement aurait détruit leur alexine. Il ne peut, d'ailleurs, correspondre à une alexine transformée qui, par l'action du vieillissement, perdrait ses propriétés normales pour acquérir des propriétés anticomplémentaires. Les faits que nous avons recueillis avec le P^r L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg permettent de rejeter ces deux théories analogues à celles de Müller et d'Ehrlich-Sachs.

I. — Les sérums de Cheval, qui ne contiennent pas d'alexine à l'état normal, peuvent néanmoins devenir anticomplémentaires lorsqu'ils sont soumis à l'action du vieillissement.

Origine du sérum	Taux d'alexine	P. A. C. naturel	Durée du vieillessement	P. A. C. de vieillessement
Cheval 278	0	1/16	7 jours	1/64
Cheval 1032	0	1/4	7 jours	1/64
Cheval 1224	0	1/8	7 jours	1/64

De même les sérums humains qui ne contiennent pas d'alexine peuvent acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

Origine du sérum	Taux d'alexine	Durée du vieillessement	P. A. C. de vieillessement
Nouveau-né 105.....	0	8 jours	1/2
Nouveau-né 107.....	0	8 jours	1/4
Sujet normal 78 ans...	0	48 jours	1/80
Cancéreux 52 ans.....	0	50 jours	1/16

Un sérum de Coq nous a permis de faire des constatations aussi nettes.

Origine du sérum	Taux d'alexine	Durée du vieillissement	Taux du P. A. C. de vieillissement
Coq N° 2	0	19 jours	1/16

II. — Les sérums que l'on soumet au battage et que l'on prive ainsi de leur alexine peuvent encore, lorsqu'ils sont conservés à + 5°, acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement : on peut même établir que le taux anticomplémentaire de ces sérums n'est pas inférieur à celui que possèdent les sérums vieillis qui n'ont pas été inactivés par agitation.

Origine du sérum	Taux d'alexine		Durée du vieillessement	P. A. C. du sérum	
	avant battage	après battage		battu	non battu
F. E. 72, 31 ans; gross. 8 mois.	1/8	0	20 jours	1/80	1/80
F. E. 73, 30 ans; gross. 9 mois.	1/8	0	13 jours	1/80	1/80
F. E. 74, 19 ans; gross. 9 mois.	1/4				
(sérums réunis).					

III. — Les sérums de Cobaye, qui ont été traités par le kaolin et ont ainsi perdu leur alexine peuvent encore devenir anticomplémentaires, lorsqu'ils sont soumis à l'action du vieillissement.

Origine du sérum	Taux d alexine		Durée du vieillissement	P.A.C. du sérum	
	avant kaolin	après kaolin		non kaoliné	kaoliné
C. 86, <i>bis</i> et 87...	1/10	0	15 jours	0	1/1
C. 88 et <i>bis</i>	1/8	0	8 jours 15 jours	1/1	1/1
C. 89 et <i>bis</i>	1/8	0			
			8 jours	1/8	1/8

Il faut, toutefois, reconnaître que les sérums humains qui ont été inactivés par le kaolin n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Nous avons observé le même fait pour un sérum de Coq qui avait été kaoliné (1).

En résumé, on n'a jamais pu isoler une substance spécifique qui, contenue dans les sérums, leur donnerait le pouvoir anticomplémentaire. Les recherches qui ont été tentées sur les sérums devenus anticomplémentaires après chauffage et sur les sérums devenus anticomplémentaires après vieillissement ont également échoué. On peut présumer que si des recherches étaient tentées sur les sérums qui possèdent le pouvoir anticomplémentaire naturel, elles ne seraient pas appelées à rencontrer un plus grand succès.

(1) Comme le kaolin n'exerce pas seulement son action sur l'alexine des sérums mais sur plusieurs de leurs composants, on peut supposer que la différence de composition du sérum de Cobaye et du sérum humain explique pourquoi les premiers après kaolinage peuvent encore acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement, tandis que les seconds, dans les mêmes conditions, ne deviennent pas anticomplémentaires.

Le développement du pouvoir anticomplémentaire dans les sérums chauffés ou vieillis, n'est pas lié à la disparition de leur alexine. Les sérums avant qu'on les ait inactivés par le chauffage ou par le vieillissement, ne contiennent pas de substances anticomplémentaires, thermostables ou thermolabiles, qui y seraient dissimulées. L'alexine sous l'action de la chaleur ou du vieillissement ne se transforme pas en une substance anticomplémentaire qui, dans le premier cas, résisterait au chauffage à 54-55° et dans le deuxième cas serait détruite par lui.

**La répartition du pouvoir anticomplémentaire
entre les lipoides et les protéines des sérums**

Lorsque Noguchi avait essayé d'isoler une substance anticomplémentaire dans les sérums chauffés, il l'avait recherchée dans les lipoides qu'il avait extraits de ces sérums. Lorsque Zinsser et Johnson avaient tenté d'obtenir la substance qui donnait leur pouvoir anticomplémentaire aux sérums vieillis, ils avaient essayé de la déceler dans les globulines de ces sérums. Mais Noguchi n'avait pas, semble-t-il, essayé de savoir si, après l'extraction des lipoides, les protéines des sérums chauffés conservaient encore le pouvoir anticomplémentaire et Zinsser et Johnson n'avaient pas paru se demander si après l'extraction des globulines, les lipoides et les protéines résiduelles des sérums vieillis pouvaient encore exercer une action anticomplémentaire. D'autre part, ni Noguchi, ni Zinsser et Johnson n'avaient essayé de savoir si les lipoides des sérums non chauffés ou les globulines des sérums frais possédaient un pouvoir anticomplémentaire.

Les travaux de Kolmer et de ses élèves permirent de mieux connaître l'action qu'exerce la chaleur sur les lipoides et les protéines des sérums. Les sérums, devenus

anticomplémentaires après avoir été chauffés à 54-62° ne perdent pas leur pouvoir anticomplémentaire après extraction de leurs lipoïdes par l'éther ou le chloroforme; leurs protéines et en particulier leurs globulines restent encore anticomplémentaires. De même, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement n'appartient pas seulement aux globulines des sérums vieillis, mais aussi à leurs autres composants protéiniques et même à leurs lipoïdes. Il était ainsi prouvé que, contrairement à ce que croyaient avoir démontré Noguchi, puis Zinsser et Johnson, le pouvoir anticomplémentaire des sérums ne se développait pas d'une façon exclusive, s'ils étaient chauffés, dans leurs lipoïdes et, s'ils étaient vieillis, dans leurs protéines ou même plus spécialement dans leurs globulines; le chauffage ou le vieillissement exerçaient leur action simultanément sur les lipoïdes et sur les protéines qui acquéraient les uns et les autres le pouvoir anticomplémentaire.

Le pouvoir anticomplémentaire et l'équilibre protéino-lipoïdique des sérums

Kolmer ne se contenta pas de démontrer que le chauffage et le vieillissement développaient des propriétés anticomplémentaires dans les composants lipoïdiques et protéiniques des sérums, propriétés qui résistaient à la chaleur lorsqu'elles se développaient dans les sérums chauffés et qui étaient thermolabiles lorsqu'elles apparaissent dans les sérums vieillis. Il se demanda encore si les lipoïdes et les globulines que l'on pouvait extraire des sérums, qui n'avaient été ni chauffés ni vieillis, ne possédaient pas eux aussi le pouvoir anticomplémentaire.

Dès 1904, Landsteiner et von Eisler avaient montré que l'on pouvait extraire des globules rouges des lipoïdes qui étaient capables d'exercer une action empêchante sur l'hé-

molyse; puis, en 1905, Landsteiner et von Eisler avaient obtenu, en partant des sérums, des lipoïdes qui étaient doués de la même propriété (1). Les résultats de ces travaux avaient été confirmés par Bang et par Forssmann (1905 et 1906). On devait donc se demander si le pouvoir anticomplémentaire des extraits, obtenus en traitant par l'éther ou le chloroforme les sérums chauffés, était bien dû aux modifications que la chaleur avait fait subir à ces sérums. La question sembla être résolue par Kolmer : il constata que l'activité anticomplémentaire des lipoïdes extraits des sérums chauffés était sensiblement égale à celle des lipoïdes extraits des mêmes sérums non chauffés. Il put établir, de même, qu'il n'était pas nécessaire que des globulines fussent extraites d'un sérum vieilli pour posséder le pouvoir anticomplémentaire : les globulines, même lorsqu'elles provenaient d'un sérum frais, pouvaient, suivant Kolmer, exercer une action anticomplémentaire, à la condition toutefois qu'on les employât en solution assez concentrée.

Les sérums frais, bien qu'ils ne soient pas anticomplémentaires, contiendraient donc des composants lipoïdiques et protéiniques qui posséderaient le pouvoir anticomplémentaire. Kolmer proposa deux hypothèses pour expliquer ce fait : peut-être le procédé d'extraction que l'on avait employé pour isoler les lipoïdes et les protéines des sérums, avait-il produit des modifications de leur constitution qui les avait rendus anticomplémentaires; peut-être, les lipoïdes et les protéines étaient-ils combinés dans les sérums à certains corps qui empêchaient leur pouvoir anticomplémentaire de se manifester. Ni l'une, ni l'autre de ces hypothèses, d'ailleurs, ne fut soumise par Kolmer, au contrôle expérimental.

Une troisième hypothèse pourrait être proposée pour

(1) Les travaux du Professeur Fabre ont définitivement démontré que le cholestérol exerce une action antihémolytique.

expliquer le fait, en apparence paradoxal, mis en lumière par Kolmer. Lorsqu'on isole les uns des autres les lipoïdes et les protéines d'un sérum, on dissocierait le complexe lipo-protéinique de ce sérum et on romprait l'équilibre des éléments qui entrent dans la constitution de la molécule sérique; isolés, les lipoïdes et les protéines posséderaient des propriétés nouvelles qui ne pouvaient apparaître lorsqu'ils étaient unis entre eux par une sorte de saturation réciproque. On pourrait même aller plus loin et penser que les propriétés anticomplémentaires des extraits lipoïdiques ou protéiniques seraient en relation avec la reconstitution du complexe lipo-protéinique de la molécule sérique. Cette hypothèse, émise par L. Nattan-Larrier, est évidemment une simple hypothèse de travail : les recherches entreprises montreront si elle peut être admise, si elle doit être modifiée, ou si elle est dépourvue de toute valeur.

Dans les sérums qui deviennent anticomplémentaires après avoir subi l'action de la chaleur ou du vieillissement, ne se produit pas, évidemment, une rupture de l'équilibre lipo-protéinique qui soit comparable à celle des sérums dont on a extrait les lipoïdes ou les protéines. On sait toutefois que le chauffage, ainsi que le vieillissement, exercent une action sur les lipoïdes et sur les protéines des sérums. Les travaux de Coppo ont montré que les lipoïdes des sérums qui ont été chauffés à 56° ne peuvent plus être extraits en totalité par leurs solvants habituels. D'autre part, lorsque les sérums sont soumis au vieillissement, une certaine proportion de leurs protéines flocculent. Dans les deux cas, une rupture de l'équilibre moléculaire lipo-protéinique des sérums pourrait se produire (1). Quant aux

(1) Pour que la valeur de l'hypothèse avancée ici fut démontrée, il faudrait évidemment prouver que l'équilibre lipo-protéinique des sérums se trouve modifié lorsqu'ils sont chauffés et il faudrait également établir que l'équilibre lipo-protéinique des sérums subit des modifications différentes lorsqu'ils sont soumis à l'action du vieillissement.

sérums qui possèdent le pouvoir anticomplémentaire naturel, on peut imaginer qu'ils ne possèdent pas à l'état frais l'équilibre moléculaire lipo-protéinique qui existe dans les sérums normaux qui ne sont pas anticomplémentaires (1).

L'hypothèse, qui vient d'être exposée, ne tient pas compte évidemment de toutes les modifications que peuvent subir les sérums soumis à l'action de la chaleur (2) ou du vieillissement, mais elle pourrait permettre d'expliquer certains caractères du pouvoir anticomplémentaire de ces sérums.

I. — On sait que les sérums chauffés avant d'être soumis au vieillissement peuvent ne pas devenir anticomplémentaires. Ce fait s'expliquerait si l'on admettait que le chauffage rompt l'équilibre lipo-protéinique des sérums en faveur des protéines et que le vieillissement rompt cet équilibre en faveur des lipoïdes. Lorsque ces deux actions s'annuleraient, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement n'apparaîtrait pas. Lorsque l'action du vieillissement l'emporterait sur celle du chauffage, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement apparaîtrait, mais son taux serait moins élevé que si les sérums traités par le vieillissement n'avaient pas, au préalable, été traités par le chauffage (3).

(1) Rappelons que le sérum de Cheval, qui possède le pouvoir anticomplémentaire naturel, ne contient pas d'alexine ou en contient une très faible quantité. Goldie en ajoutant une solution de pseudo-globuline au sérum de Cheval a fait apparaître son pouvoir alexique.

(2) P. Lecomte du Nouÿ a étudié, dans d'importants travaux les actions exercées par la chaleur sur les sérums ; la plupart de ses expériences sont résumées dans son bel ouvrage publié en 1936 (La température critique du sérum. Hermann, éditeur).

(3) L'équilibre lipo-protéinique pourrait se rétablir, en un premier temps, dans les sérums chauffés puis soumis à l'action du vieillissement ; mais la prolongation du vieillissement pourrait, dans un deuxième temps, rompre l'équilibre lipo-protéinique du sérum et y faire apparaître le pouvoir anticomplémentaire. Le sérum d'un enfant de 8 ans, chauffé à 56-57°, puis soumis à l'action du vieillissement, ne possédait pas le pouvoir anticomplémentaire au 13^e jour, mais avait acquis au bout de cinq mois un pouvoir anticomplémentaire dont le taux était de 1/2.

II. — Si le vieillissement des sérums les rendait anticomplémentaires en déterminant la rupture de leur équilibre lipo-protéinique en faveur des lipoides, on comprendrait facilement que le chauffage, en exerçant son action en faveur des protéines put rétablir leur équilibre lipo-protéinique et leur faire perdre leur pouvoir anticomplémentaire. Ainsi s'expliquerait le caractère thermolabile du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Mais, d'autre part, le chauffage pourrait provoquer une rupture de l'équilibre lipo-protéinique en faveur des protéines qui serait trop marquée pour annuler seulement le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement et la chaleur provoquerait alors l'apparition du pouvoir anticomplémentaire de chauffage.

III. — La théorie de la rupture de l'équilibre lipo-protéinique expliquerait peut-être pourquoi la chaleur et le vieillissement n'agissent pas de la même façon sur les sérums qui ne contiennent pas la même proportion de lipoides et de protéines, qu'il s'agisse de sérums humains ou de sérums provenant d'animaux appartenant à des espèces différentes.

IV. — Cette théorie rendrait compte plus facilement encore des modifications que subit le pouvoir anticomplémentaire de chauffage du sérum chez les animaux qui reçoivent soit par ingestion, soit par injection de fortes quantités de lipoides ou de protéines. Il faut noter, d'ailleurs, que les variations du pouvoir anticomplémentaire ainsi produites sont passagères, ce qui amène à penser qu'un mécanisme régulateur pourrait intervenir pour rétablir, après ces interventions brutales, l'équilibre lipo-protéinique du sérum.

Conclusions

1. — Les recherches faites simultanément sur l'alexine et sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum prouvent que, dans les sérums frais, le pouvoir anticomplémentaire ne préexiste pas tout en étant masqué par l'alexine (hypothèse de Müller); elles démontrent que, dans les sérums inactivés, l'alexine n'est pas transformée en une substance exerçant le pouvoir anticomplémentaire (hypothèse d'Ehrlich et de Sachs).

2. — Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage n'est pas dû à une substance spéciale contenue dans les lipoides du sérum (Noguchi) et le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ne correspond pas à une substance anticomplémentaire contenue dans la fraction globuline des protéines du sérum vieilli (Zinsser et Johnson). Le sérum résiduel obtenu dans le premier cas, après extraction des lipoides, dans le second cas, après extraction des globulines, posséderait un pouvoir anticomplémentaire au moins égal à celui des lipoides ou globulines dont il a été privé (Kolmer).

3. — Les lipoides ou les globulines, extraits d'un sérum normal non anticomplémentaire, posséderaient le pouvoir anticomplémentaire. Le sérum résiduel, obtenu après l'extraction de l'un ou de l'autre de ses composants, posséderait également le pouvoir anticomplémentaire (Kolmer).

4. — On est conduit à penser que le chauffage et le vieillissement pourraient rendre les sérums anticomplémentaires en dissociant leur complexe lipo-protéinique ou plutôt en modifiant les lipoides ou les globulines des sérums et en y rompant l'équilibre moléculaire lipo-protéinique.

SECONDE PARTIE

CHAPITRE I

PROCÉDÉS DESTINÉS

A DÉTERMINER LA DISPARITION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

Dès que le pouvoir anticomplémentaire des sérums eût été découvert, on s'efforça de supprimer l'obstacle qu'il opposait aux réactions sérologiques fondées sur la fixation du complément. On considérait alors que les sérums anticomplémentaires devaient leurs propriétés à l'existence d'une substance spécifique, aussi chercha-t-on soit à extraire cette substance, soit à la détruire, soit à la fixer, soit à la neutraliser, tout en évitant d'altérer les sensibilisatrices ou la réagine qui permettent d'obtenir la réaction de Bordet-Gengou ou la réaction de Wassermann.

Filtration des sérums anticomplémentaires sur bougie

A la suite des recherches de Muir et Browning (1909) sur la filtration des sérums hémolytiques de Cobaye, Kol-

mer, Trist et Heist, recherchèrent en 1916, si les sérums anticomplémentaires filtrés sur bougie de Kitasato, perdaient leur pouvoir anticomplémentaire de chauffage. En 1919, Kyutoku reprit la même étude en soumettant à la filtration des sérums possédant le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou de chauffage.

Kyutoku diluait les sérums à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique à 8 p. 1.000 (1). Une moitié de chacun des sérums dilués était destinée à fournir des témoins : elle était répartie en deux tubes dont l'un n'était pas soumis à l'action du chauffage et dont l'autre l'était; puis on dosait le pouvoir anticomplémentaire dans le contenu de chacun d'entre eux. L'autre moitié des sérums dilués était destinée à la filtration; elle était également divisée, en deux fractions qui étaient, l'une, conservée à l'état frais et l'autre chauffée; puis elles étaient toutes deux filtrées sur bougies neuves, propres et stériles (2) sous aspiration par la trompe à eau; après filtration, le pouvoir anticomplémentaire était dosé dans les sérums non chauffés et chauffés. La comparaison entre les pouvoirs anticomplémentaires des sérums compris dans le premier et dans le second lot renseignait sur les effets de la filtration. Kyutoku put constater, qu'après leur filtration, les sérums humains avaient perdu leurs pouvoirs anticomplémentaires thermolabiles ou thermostables.

Les sérums anticomplémentaires des syphilitiques perdirent, par la filtration, leur pouvoir anticomplémentaire tout en conservant leur aptitude à donner la réaction de Wassermann.

La filtration sur bougie Kitasato fit disparaître le pou-

(1) Suivant Kyotoku, les sérums qui ne sont pas dilués ne perdent pas complètement leur pouvoir anticomplémentaire par la filtration.

(2) La filtration sur bougies Kitasato qui ont servi plus de deux fois ne permettrait pas d'obtenir la suppression complète du pouvoir anticomplémentaire.

voir anticomplémentaire des sérums de Chiens comme celui des sérums humains (1).

Traitement des sérums anticomplémentaires par les poudres inertes

Kyutoku a essayé de priver les sérums de leur pouvoir anticomplémentaire en les traitant par le sulfate de baryum, par le noir animal, par le charbon végétal finement pulvérisé et par le kaolin.

SULFATE DE BARYUM. — Les sérums étaient dilués à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique. On dosait leur pouvoir anticomplémentaire avant et après les avoir chauffés. Puis on ajoutait à 2 cc. de ces sérums non chauffés et à 2 cc. des mêmes sérums chauffés des quantités croissantes — 1 cc. 5, 5 cc. 5, 11 cc. — d'une suspension à 7 p. 100 en eau physiologique de sulfate de baryum. Les mélanges étaient laissés une heure à l'étuve à 37°, puis étaient centrifugés. Le liquide surnageant était recueilli, puis additionné d'eau physiologique de manière à ramener la dilution au même titre dans tous les sérums traités.

En procédant ainsi, Kyutoku constata que le sulfate de baryum absorbe en partie le pouvoir anticomplémentaire du sérum, qu'il soit thermostable ou thermolabile, mais agit d'une façon plus marquée sur le pouvoir anticomplémentaire.

(1) Suivant Kolmer, les sérums, soumis à la dialyse, ne perdent pas leur pouvoir anticomplémentaire et acquièrent même un pouvoir anticomplémentaire légèrement plus élevé. Les expériences de Kolmer furent faites sur les sérums de 2 Lapins et de 2 Chiens. Ces sérums, après avoir été dilués à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique et après avoir été additionnés de 0 gr. 25 de tricrésol pour 100, furent dialysés à l'eau courante pendant 72 heures. Le taux anticomplémentaire des sérums dialysés fut comparé au taux anticomplémentaire des mêmes sérums non dialysés, mais dilués au même titre que les sérums soumis à la dialyse.

taire thermolabile. Les résultats furent meilleurs lorsqu'on employa de fortes quantités de sulfate de baryum que lorsqu'on traita les sérums par de faibles quantités de ce sel.

NOIR ANIMAL ET CHARBON VÉGÉTAL. — Le sérum était dilué à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique et l'on titrait son pouvoir anticomplémentaire avant et après chauffage. On versait dans un mortier 20 cc. de sérum dilué et on y ajoutait 0 gr. 50 de noir animal ou de charbon végétal stérilisés. On broyait soigneusement et on portait à l'étuve pendant une heure. On centrifugeait et on filtrait sur papier le liquide surnageant, dont on étudiait le pouvoir anticomplémentaire en le comparant à celui du même sérum non traité par le noir animal ou par le charbon végétal (1).

Kyutoku constata que le traitement par le noir animal ou par le charbon végétal diminuait le taux du pouvoir anticomplémentaire thermolabile ou thermostable des sérums, mais agissait plus faiblement que le traitement par le sulfate de baryum.

KAOLIN. — La technique, employée par Kyutoku fut identique à celle qu'il employa pour traiter les sérums anticomplémentaires par le noir animal ou par le charbon végétal. Pour Kyutoku, les résultats donnés par le kaolin ne diffèrent pas de ceux fournis par le noir animal ou le charbon végétal; ils sont moins favorables que ceux produits par le sulfate de baryum.

Nous avons fait avec le Professeur L. Nattan-Larrier et avec M^{me} L. Steeg quelques recherches sur le traitement des sérums anticomplémentaires par le kaolin, mais la technique que nous avons suivie a différé sensiblement de celle adoptée par Kyutoku. Nous mélangions 0 gr. 70 de kaolin

(1) Kyutoku a proposé une autre technique qui donne des résultats analogues. Nous croyons inutile de la décrire.

finement pulvérisé et lavé avec 7 cc. de sérum. Le mélange, après avoir été agité, était laissé 16 heures à la température du laboratoire; puis, il était centrifugé et le sérum surnageant était décanté. Les 3 expériences qui sont résumées dans le tableau suivant montrent l'action qu'exerça le kaolin sur le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de cheval.

Origine du sérum	P. A. C. naturel avant kaolinage	P. A. C. naturel après kaolinage
Cheval n° 1224.....	1/8	1/1
Cheval n° 278.....	1/16	1/2
Cheval n° 1038.....	1/4	1/16

Le kaolinage n'exerce donc pas toujours la même action sur le pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de Cheval; tantôt il affaiblit très notablement ce pouvoir anticomplémentaire naturel, tantôt au contraire il l'augmente (1).

Traitement des sérums anticomplémentaires par la chaleur

Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage ne persiste pas dans les sérums humains que l'on porte pendant 30 minutes à 70°. Mais, comme cette température détruit les sensibilisatrices, on ne peut évidemment pas l'employer pour supprimer le pouvoir anticomplémentaire des sérums, destinés à la recherche de la réaction de fixation du complément. On peut se demander, au contraire, si l'on ne pourrait employer la chaleur pour faire disparaître le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement et le pouvoir anticomplémentaire naturel, détruits tous deux par le chauff-

(1) Ces faits tendent à démontrer que le kaolin n'agit pas directement sur le pouvoir anticomplémentaire, mais exerce son action sur certains composants du sérum, qui déterminent le pouvoir anticomplémentaire et peuvent exister en proportion variable dans les sérums d'animaux de même espèce.

fage à 56-57°, qui n'exerce pas d'action sur les sensibilisatrices.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE VIEILLISSEMENT. — Le *chauffage* à 56-57° ne peut être employé pour supprimer le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement de la majorité des sérums, car il développe, en général, le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. Toutefois, le chauffage à 56-57° peut supprimer le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement de certains sérums, sans y faire apparaître le pouvoir anticomplémentaire de chauffage; il en est ainsi le plus souvent pour les sérums des femmes enceintes. Peut-on essayer de détruire le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement par des températures supérieures ou inférieures à 56-57°? Le *chauffage* à 60-62°, développe un très fort pouvoir anticomplémentaire dans les sérums des nouveau-nés. Le *chauffage* à 54-55°, d'autre part, provoque avec une remarquable facilité l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans tous les sérums humains.

Ces conclusions ne sont pas applicables aux sérums de Cheval devenus anticomplémentaires par vieillissement. Chauffés à 54-55°, ils restent anticomplémentaires. Leur pouvoir anticomplémentaire est augmenté ou diminué par le chauffage à 56-57°, mais, après chauffage à 60-62°, il disparaît, en général, ou, s'il persiste, il devient faible.

Origine du sérum	Numéro de la saignée	Durée de conservation	P. A. C. du sérum vieilli	P. A. C. du sérum vieilli puis chauffé à		
				54-55°	56-57°	60-62°
Ch. 222	2 ^e saignée	54 jours	1/8	1/8	1/16	0
	3 ^e saignée	52 jours	1/4	1/2	1/1	0
	4 ^e saignée	38 jours	1/4	1/4	1/1	0
	5 ^e saignée	33 jours	1/8	1/4	1/1	0
Ch. 224	2 ^e saignée	60 jours	1/4	1/2	1/8	1/1
	3 ^e saignée	60 jours	1/4	1/2	1/1	1/1
	4 ^e saignée	53 jours	1/10	1/3	0	0
	5 ^e saignée	46 jours	1/10	1/2	1/1	0

On réussira donc dans la plupart des cas à éliminer le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement des sérums de Cheval, en les chauffant à 60-62° (1).

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE NATUREL. — Suivant certains auteurs, le pouvoir anticomplémentaire naturel, lorsqu'il n'est pas intense, disparaîtrait en 5 minutes dans les sérums qui sont chauffés à 56-57° ; un rapide chauffage fait à cette température supprimerait donc le pouvoir anticomplémentaire naturel de ces sérums sans leur permettre d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire de chauffage qui se développe avec une relative lenteur.

D'autre part, certains sérums, chauffés pendant 30 minutes, perdent leur pouvoir anticomplémentaire naturel sans acquérir le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. Pour le sérum de Cheval, par exemple, le chauffage à 60-62°, maintenu pendant une demi-heure détruit le pouvoir anticomplémentaire naturel dans la plupart des cas, sans développer le pouvoir anticomplémentaire de chauffage.

Origine du sérum	P.A.C. naturel	P.A.C. après chauffage à		
		54-55°	56-57°	60-62°
Cheval 224.....	1/8	1/40	0	0
Cheval 1038.....	1/4	1/16	1/2	1/1
Cheval 278.....	1/16	1/40	1/4	0

Pour déterminer la disparition du pouvoir anticomplémentaire naturel du sérum de la femme enceinte, c'est au chauffage à 56-57° que l'on devra avoir recours, comme le montre l'exemple suivant.

(1) Si le pouvoir anticomplémentaire de ces sérums persistait après chauffage à 60-62°, son faible taux permettrait de les employer pour la réaction de déviation du complément, en suivant toutefois les techniques qui seront indiquées plus loin.

Origine du sérum	P. A. C. naturel	P. A. C. après chauffage à	
		54-55°	56-57°
Femme enceinte n° 97, 32 ans; gross. 8 mois.	1/4	1/2	0

Essais d'adsorption du pouvoir anticomplémentaire par les globules rouges

D'après Noguchi (1906), les globules rouges pourraient adsorber la substance « antilytique » développée dans les sérums soumis à l'action de la chaleur. Pour le démontrer, Noguchi fit l'expérience que nous résumerons ainsi.

Des globules rouges de Mouton furent soigneusement lavés, puis furent mis en suspension dans de l'eau physiologique dans la proportion de 5 cc. de globules rouges pour 100 cc. d'eau physiologique. Un centimètre cube de cette suspension fut mélangé avec 4 cc. de sérum de Lapin, de Bœuf ou de Chien, chauffé au préalable à 57°. On maintint le contact des globules rouges et du sérum chauffé pendant 6 heures à 37°. Puis les globules rouges furent séparés du sérum par centrifugation et furent lavés à plusieurs reprises dans 30 cc. d'eau physiologique. Ces globules rouges furent alors mélangés dans les proportions voulues avec un sérum hémolytique antimouton et avec de l'alexine de Cobaye. En comparant les résultats ainsi obtenus avec les résultats qu'il obtenait en répétant l'expérience, mais en employant cette fois des globules rouges de Mouton qui n'avaient pas été mis en contact avec un sérum chauffé, Noguchi crut pouvoir établir que les globules rouges de Mouton traités par un sérum chauffé acquéraient une résis-

tance manifeste à l'hémolyse (1). Cette expérience semblait éclairer le mécanisme de l'action exercée par les sérums chauffés: la chaleur ferait apparaître dans ces sérums une « substance anti-hémolytique » qui se fixerait sur les globules rouges et empêcherait l'alexine de provoquer leur lyse en présence du sérum hémolytique correspondant.

Noguchi supposa, en outre, que les sérums chauffés étaient dépouillés de leur « substance anti-hémolytique » par les globules rouges. Pour le démontrer, il mélangea 1 cc. d'une suspension à 5 p. 100 de globules rouges de Mouton avec 2 cc. de sérum de Lapin ou de Chien qui avait été chauffé à 57°; ce mélange fut laissé pendant 18 heures à 20°; puis le sérum fut séparé des globules rouges par centrifugation. Le pouvoir « anti-hémolytique » de ce sérum fut alors comparé par Noguchi avec celui d'un autre échantillon du même sérum qui, avait été aussi chauffé à 57°, mais qui n'avait pas été laissé en contact, avec des globules rouges. Noguchi crut observer que les sérums chauffés qui avaient été traités par les globules rouges avaient perdu leur « pouvoir anti-hémolytique », tandis que les mêmes sérums, non traités par les globules rouges, étaient restés « anti-hémolytiques » (2). Ces expériences tendaient à laisser supposer que l'on pourrait débarrasser de leur « substance anti-hémolytique » les sérums chauffés, de quelque espèce animale qu'ils pussent provenir, en les laissant en contact avec des globules rouges, quel que fut l'animal qui eût fourni ces globules. Noguchi espéra donc qu'on pourrait faire disparaître la « substance anti-hémolytique » des sérums chauffés en déterminant son adsorption par les globules rouges.

(1) Noguchi crut constater que la résistance à l'hémolyse des globules rouges, traitée par le sérum chauffé, pouvait être surmontée, lorsque la réaction d'hémolyse était recherchée avec un excès d'alexine ou de sérum hémolytique.

(2) En réalité, les résultats qu'obtint Noguchi ne furent pas strictement les mêmes dans tous les cas; il expliqua ces variations par l'hypothèse d'une fixation, plus ou moins complète des substances antilytiques sur les globules rouges.

Malheureusement, les conclusions de Noguchi ne purent être vérifiées ni par Zinsser et Johnson (1911), ni par Kolmer et Trist (1916), ni par Kyutoku (1919).

Les recherches de Zinsser et Johnson furent faites sur des sérums humains vieillis. Ils constatèrent, d'une part, que les globules rouges ne résistaient pas mieux à l'hémolyse, après avoir été maintenus en contact avec un sérum vieilli et, d'autre part, que les sérums vieillis restaient « anti-hémolytiques » après avoir été mélangés avec des globules rouges dans les conditions indiquées par Noguchi.

Les expériences de Kolmer et Trist démontrèrent, que les globules rouges ne résistaient pas mieux à l'hémolyse après avoir été laissés en contact avec un sérum chauffé et prouvèrent, que les propriétés des sérums chauffés ne s'atténuaient pas, mais étaient même renforcées, lorsqu'on les laissait en contact avec des globules rouges.

Kyutoku, à son tour, put établir que la lyse des globules rouges du Mouton se faisait aussi facilement, qu'ils eussent été soumis ou non à l'action des sérums humains vieillis ou chauffés; il put également constater, que les globules rouges n'adsorbaient ni les « substances anti-hémolytiques » thermolabiles, ni les « substances anti-hémolytiques » thermostables et laissaient aux sérums humains vieillis ou chauffés tout leur pouvoir empêchant.

Les études de Zinsser et Johnson, de Kolmer et Trist, de Kyutoku ne permettaient donc plus d'espérer que l'on pourrait faire perdre aux sérums humains ou aux sérums des animaux leur pouvoir anticomplémentaire en les traitant par des globules rouges homologues ou hétérologues, soit à 20°, soit à 37°, soit à 40°, pendant 3 heures ou même pendant beaucoup plus longtemps.

Ces conclusions se sont encore trouvées confirmées par les recherches que nous avons faites avec le Professeur Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg. Pour rechercher le pouvoir anticomplémentaire naturel des sérums humains, nous avons dû presque toujours les dépouiller de leur hémolyse.

lysine naturelle antimouton en les laissant en contact avec des globules rouges de Mouton, suivant la technique que nous avons déjà décrite. Les exemples suivants montrent que ce contact avec les globules rouges de Mouton ne fit pas disparaître le pouvoir anticomplémentaire naturel des sérums humains (1).

Origine du sérum	Taux du P.A.C. naturel après contact du sérum avec les globules rouges de Mouton
Femme enceinte n° 89	
23 ans; gross. 1 mois.....	1/8
Femme enceinte n° 90	
28 ans; gross. 8 mois.....	1/64
Femme enceinte n° 91	
25 ans; gross. 8 mois.....	1/4
Femme enceinte n° 97	
32 ans; gross. 8 mois.....	1/4

Nos recherches s'ajoutent donc à celles de Zinsser et Johnson, de Kolmer et Trist, Kyutoku pour démontrer que les sérums qui possèdent le pouvoir anticomplémentaire ne le perdent pas lorsqu'on les laisse en contact avec des globules rouges dans les conditions indiquées par Noguchi.

Neutralisation du pouvoir anticomplémentaire par l'alexine

Zinsser et Johnson, reprenant en 1911, l'étude des sérums empêchants, critiquèrent les expériences de Noguchi et s'efforcèrent à leur tour d'établir comment les sérums

(1) Dans quelques cas, nous avons examiné le pouvoir anticomplémentaire de sérums humains qui avaient été chauffés, puis mis en contact avec des globules rouges de mouton; ces sérums conservèrent leur pouvoir anticomplémentaire. C'est ainsi que les sérums des femmes enceintes 89 et 90, ainsi traités, possédaient le premier un taux anticomplémentaire de 1/2 et le second un taux anticomplémentaire de 1/4.

humains vieilliss ou chauffés pouvaient empêcher l'hémolyse. Ils démontrèrent tout d'abord que ces sérums n'agissaient ni en se fixant sur les globules rouges dont ils auraient augmenté la résistance, ni en modifiant la sensibilisatrice du sérum hémolytique, ni en exerçant une action sur le complexe globules rouges-sensibilisatrice. Puis reprenant une hypothèse qui avait été proposée, puis abandonnée par Noguchi, ils s'efforcèrent de prouver que la substance empêchant du sérum agissait en neutralisant le pouvoir lytique du complément. Ils laissèrent en contact à l'étuve un sérum empêchant humain et un sérum alexique de Cobaye, ajoutèrent ensuite au mélange des deux sérums, des globules rouges de Mouton qui avaient été sensibilisés et constatèrent que dans ces conditions l'hémolyse ne se produisait pas. Comme, seule, une action du sérum humain sur le sérum de Cobaye pouvait, dans une telle expérience, expliquer la disparition des propriétés de l'alexine, Zinsser et Johnson désignèrent le pouvoir empêchant des sérums humains vieilliss ou chauffés sous le nom de pouvoir anticomplémentaire. L'expérience de Zinsser et Johnson inspira les procédés qui permettent de doser le pouvoir anticomplémentaire des sérums. Ainsi des expériences, faites en nombre considérable, ont pu s'ajouter à celles de Zinsser et Johnson pour justifier la conception de ces sérologistes.

Zinsser et Johnson proposèrent, en outre, une méthode qui devait permettre de neutraliser par l'alexine le pouvoir anticomplémentaire des sérums. Pour obtenir la neutralisation des sérums anticomplémentaires, il suffirait, suivant Zinsser et Johnson, de les mélanger à une quantité d'alexine qui fût supérieure à celle correspondant à leur taux anticomplémentaire. Si l'on a constaté, par exemple, que le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum est tel que, pour le faire disparaître, on doit ajouter à 0 cc. 2 de ce sérum 0 cc. 2, 0 cc. 4 ou 0 cc. 6 d'une alexine de Cobaye, il suffira, disent Zinsser et Johnson, d'ajouter à la même quantité de ce même sérum 0 cc. 8 ou 1 cc. de

la même alexine pour être assuré que l'action anticomplémentaire du sérum ne s'exercera plus et qu'il n'empêchera pas l'alexine de déterminer la lyse des globules rouges de Mouton qui ont été sensibilisés.

Nous donnerons un exemple des résultats que la méthode de Zinsser et Johnson peut fournir, en citant une des expériences que nous avons faites avec le Professeur L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg.

Origine du sérum		Taux de l'alexine employée	P.A.C.
Sérum conservé 6 mois à + 5° (enfant de 8 ans).	1 ^{er} essai.	Alexine au taux du jour : diluée à 1 p. 8.....	1/80
	2 ^e essai.	Même alexine : diluée à 1 p. 6....	1/1
	3 ^e essai.	Même alexine : diluée à 1 p. 3....	0

Toutefois, la méthode de Zinsser et Johnson ne peut être employée d'une façon empirique; il ne suffit pas de mettre un sérum anticomplémentaire en contact avec une forte quantité d'alexine pour être assuré de faire disparaître le pouvoir anticomplémentaire de ce sérum : l'expérience citée ci-dessous en est la preuve.

Origine du sérum		Taux de l'alexine employée	P.A.C.
Sérum conservé 6 mois à + 5° (enfant de 11 ans).	1 ^{er} essai.	Alexine au taux du jour : diluée à 1 p. 40.....	1/80
	2 ^e essai.	Même alexine : diluée à 1 p. 4....	1/10

Il sera donc nécessaire, avant d'essayer de neutraliser un sérum anticomplémentaire de connaître exactement le taux de son pouvoir anticomplémentaire (1). Cette recherche peut

(1) Il est impossible de neutraliser le pouvoir anticomplémentaire en employant un fort excès d'alexine, puis d'avoir recours au chauffage pour détruire l'alexine qui n'a pas été fixée par le sérum anticomplémentaire. Dans ce cas, en effet, le sérum frais de Cobaye, employé pour la neutralisation, devient anticomplémentaire sous l'action de la chaleur.

évidemment toujours être faite (1), mais les cas ne sont pas rares où l'on constatera l'existence de pouvoirs anticomplémentaires extrêmement élevés; nous avons vu, en effet, des sérums vieillis, dont le taux anticomplémentaire atteignait 1/100° et même 1/1.000°. Il est fréquent, d'autre part, de trouver des sérums dont le pouvoir anticomplémentaire, tout en n'étant pas très intense, pourrait difficilement être neutralisé complètement par l'alexine de Cobaye : nous en donnons cinq exemples caractéristiques (2).

Nature du P.A.C.	Sérum pur	Résultats du dosage du P. A. C. sérum dilué à									
		1/2	1/4	1/8	1/10	1/16	1/20	1/32	1/40	1/64	1/80
P.A.C. naturel (nouveau-né).....	O	O	O	O	O	pc	pc	pc	pc	pc	pc
P.A.C. sérum vieilli (Cheval).....	O	O	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc
P.A.C. de chauffage (adulte).....	O	O	O	pc	pc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc	ppc
P.A.C. de chauffage (femme enceinte).	O	O	O	pc	pc	pc	pc	pc	pc	pc	pc
P.A.C. de chauffage (Cobaye).....	O	O	O	pc	pc	pc	pc	ppc	ppc	ppc	ppc

Il est évident que, dans le premier cas, comme dans le second, les quantités de sérum frais de Cobaye qu'il serait nécessaire d'employer pour neutraliser le pouvoir anticomplémentaire rendraient impossible l'emploi de la méthode de Zinsser et Johnson (3).

(1) Nous croyons qu'il sera préférable pour doser le pouvoir anticomplémentaire de ces sérums de faire varier la quantité d'alexine, suivant la technique de Calmette, et Massol, au lieu de faire varier la quantité de sérum anticomplémentaire, suivant la technique que nous préconisons pour l'étude habituelle du pouvoir anticomplémentaire.

(2) Dans le tableau, la notation O indique que l'hémolyse ne s'est pas produite; pc indique que l'hémolyse a été partielle et ppc indique que l'hémolyse a été partielle et légère.

(3) Il reste, d'ailleurs, à se demander si les sérums, dont on sature le pouvoir anticomplémentaire par un excès d'alexine, comme le conseillent Zinsser et Johnson, peuvent encore être employés pour l'épreuve de fixation du complément : on doit craindre, semble-t-il, que la réaction de Bordet-Gengou, recherchée dans de pareilles conditions, ne puisse donner que des résultats contestables.

En résumé, l'intérêt théorique du procédé de Zinsser et Johnson n'est pas douteux (1); mais sa mise en application peut rencontrer de sérieuses et parfois d'insurmontables difficultés. On doit même se demander si ce procédé possède l'importance pratique que l'on serait tenté de lui attribuer.

Conclusions

On ne connaît actuellement aucun procédé qui puisse déterminer d'une façon constante la disparition totale du pouvoir anticomplémentaire des sérums. Depuis les recherches de Kolmer, Trist et Heist, la filtration des sérums anticomplémentaires sur bougie Kitasato n'a plus été étudiée et on ne sait si les conclusions de ces auteurs doivent être admises sans réserves. Le traitement des sérums par les corps inertes — par le sulfate de baryum, par le noir animal, par le charbon végétal, par le kaolin — atténue le pouvoir anticomplémentaire des sérums, sans le faire disparaître. Le chauffage, appliqué aux sérums qui possèdent le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou le pouvoir anticomplémentaire naturel, donne, dans certains cas, des résultats excellents, mais ne peut toujours être employé. L'adsorption par les globules rouges ne peut assurer les succès que Noguchi en attendait. On peut, enfin, saturer par l'alexine le pouvoir anticomplémentaire, mais l'application de cette méthode rencontre parfois des difficultés insurmontables.

(1) Au moment où Zinsser et Johnson poursuivaient leurs recherches, on croyait encore que le pouvoir anticomplémentaire des sérums était dû à l'existence d'une substance qui possédait une existence autonome. On croyait aussi que, suivant la conception de Müller, cette substance se combinait à l'alexine dans les sérums frais. On peut se demander aujourd'hui si la neutralisation des sérums anticomplémentaires par les sérums frais de Cobaye relève seulement de leur alexine et si les composants protéiniques et lipoidiques des sérums frais ne jouent pas un rôle prépondérant dans cette interaction.

CHAPITRE II

PROCÉDÉS DESTINÉS A EMPÊCHER LA FORMATION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

Le pouvoir anticomplémentaire se développe dans les sérums lorsqu'on les soumet à l'action du chauffage ou à l'action du vieillissement pour en faire disparaître l'alexine. On éviterait donc de rendre anticomplémentaires les sérums si on les inactivait sans les chauffer aux températures qui les rendent anticomplémentaires ou si, avant de les laisser vieillir, on les traitait par des procédés capables d'empêcher le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Pour posséder une valeur pratique, les méthodes, auxquelles on pourrait recourir, devraient, d'ailleurs, ne pas modifier l'aptitude des sérums à donner soit la réaction de Bordet-Gengou, soit la réaction de Bordet-Wassermann et devraient fournir des résultats que l'on pourrait considérer comme constants.

Méthodes destinées à inactiver extemporanément les sérums sans développer leur pouvoir anticomplémentaire

Les méthodes qui seront étudiées dans ce chapitre, se divisent en deux groupes. Dans le premier groupe se placent des méthodes d'inactivation par la chaleur fondées sur l'emploi du chauffage à des températures qui ne développent pas le pouvoir anticomplémentaire du sérum. Dans le second groupe se rangent des méthodes spéciales qui permettent d'inactiver les sérums sans les chauffer.

INACTIVATION DES SÉRUMS PAR LA CHALEUR. — Nous résumerons les recherches que nous avons entreprises avec le P^r L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg sur l'inactivation des sérums à basse température et nous analyserons nos études, faites avec les mêmes collaborateurs, sur le chauffage de certains sérums à des températures qui sont plus élevées, mais qui peuvent les inactiver sans développer leur pouvoir anticomplémentaire.

Inactivation à 49°. — Noguchi avait déjà signalé que les températures inférieures à 50°, mais voisines de 50°, peuvent inactiver le sérum humain, sans le rendre anticomplémentaire. Nous inspirant de ces recherches, nous avons essayé d'inactiver les sérums humains à 49°. La durée du chauffage à cette température, d'abord fixée à 30 minutes, fut ultérieurement portée à 45 minutes.

Dans tous les cas où nous avons employé le chauffage à 49°, nous avons obtenu l'inactivation des sérums humains.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant chauffage à 49°	Taux de l'alexine après chauffage à 49°
Femme enceinte, n° 87, 31 ans; gross. 8 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 89, 23 ans; gross. 1 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 90, 28 ans; gross. 8 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 91, 25 ans; gross. 8 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 91 bis, 36 ans; gross. 8 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 93, 25 ans; gross. 6 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 94, 27 ans; gross. 8 mois.....	1/4	0
Femme enceinte n° 95, 19 ans; gross. 8 mois.....	1/4	0
Femme enceinte n° 96, 20 ans; gross. 9 mois.....	1/8	0
Nouveau-né n° 149.....	1/1	0
Nouveau-né n° 151.....	1/4	0

Les sérums de Cobaye, au contraire, maintenus pendant 45 minutes et même 60 minutes à 49°, ne perdent pas en totalité leur alexine.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant chauffage à 49°	Durée du chauffage	Taux de l'alexine après chauffage à 49°
Cobayes 108 et 109 (sérums mélangés).....	1/10	45 minutes	1/2
Cobaye 110.....	1/8	60 minutes	1/2

Les sérums inactivés à 49° n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. Sur 8 sérums, — 5 sérums de femmes enceintes et 3 sérums de nouveau-nés, — aucun ne devint anticomplémentaire après avoir été soumis au chauffage à 49°.

Origine du sérum	Taux de l'hémolysine naturelle antimouton	Taux de l'hémolysine après adsorption	Taux P. A. C. du sérum chauffé à 49°
Femme enceinte n° 87.	1/1	0	0
Femme enceinte n° 88,	1/1	0	0
Femme enceinte n° 91 <i>bis</i> ,	0	—	0
Femme enceinte n° 95.	1/4	0	0
Femme enceinte n° 96.	1/16	0	0
Nouveau-né n° 149.	0	—	0
Nouveau-né n° 150.	0	—	0
Nouveau-né n° 151.	0	—	0

Cependant, 3 sérums de femmes enceintes se montrèrent anticomplémentaires après avoir été chauffés à 49° :

Origine du sérum	Taux de l'hémolysine naturelle antimouton	Taux de l'hémolysine après adsorption	Taux P. A. C. du sérum chauffé à 49°
Femme enceinte n° 89.	1/2	0	1/8
Femme enceinte n° 90.	1/2	0	1/64
Femme enceinte n° 91.	1/2	0	1/4

Dans ces 3 cas, contrairement à la règle, le chauffage à 49° avait-il développé un pouvoir anticomplémentaire de chauffage, un pouvoir anticomplémentaire thermostable? Il fut facile de le savoir. Deux échantillons du sérum d'une femme enceinte, qui était devenu anticomplémentaire après avoir été inactivé à 49°, furent chauffés, le premier à 54-55°, le second à 56-57°. Le chauffage du premier échantillon à 54-55° ne pouvait fournir aucun renseignement, car, à cette température, le sérum des femmes enceintes acquiert le pouvoir anticomplémentaire (1). Au contraire, le chauffage du second échantillon à 56-57°, température qui ne développe pas le pouvoir anticomplémentaire dans les sérums des femmes enceintes, devait permettre de résoudre la question; or le sérum, chauffé à 56-57°, perdit son pouvoir anticomplémentaire.

Origine du sérum	Taux de l'alexine		P.A.C. du sérum		
	Sérum frais	Sérum inactivé à 49°	Inactivé à 49°	Inactivé à 49° puis chauffé à	
				54-55°	56-57°
F. E. n° 97, 32 ans; gross. 8 mois....	1/8	0	1/4	1/2	0

Le pouvoir anticomplémentaire que l'on décèle parfois dans les sérums humains inactivés à 49°, n'est donc pas un pouvoir anticomplémentaire de chauffage, car, dans ce cas, il serait thermostable; il correspond au pouvoir anticomplémentaire naturel et est thermolabile. On comprend ainsi pourquoi les sérums inactivés à 49° peuvent être anticomplémentaires, mais le sont rarement.

(1) Le pouvoir anticomplémentaire, après le chauffage à 54-55°, a toujours été plus faible que le pouvoir anticomplémentaire constaté dans les mêmes sérums inactivés par chauffage à 49°. En dehors de celui que nous donnons dans le texte, deux exemples en peuvent être fournis. *Sérum de la femme enceinte n° 89* : après chauffage à 49°, P. A. C. = 1/8; après chauffage à 54-55°, P. A. C. = 1/2. *Sérum de la femme enceinte n° 90* : après chauffage à 49°, P. A. C. = 1/64; après chauffage à 54-55°, P. A. C. = 1/4.

Inactivation de certains sérums à des températures déterminées comprises entre 54 et 62°. — Tandis que les chauffages à 54-55°, à 56-57° ou à 60-62° inactivent tous les sérums, les chauffages à ces diverses températures ne provoquent pas avec une égale facilité l'apparition du pouvoir anticomplémentaire ni dans les sérums de tous les animaux, ni dans tous les sérums humains. On peut établir que, suivant leur origine, certains sérums n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire, soit à 54-55°, soit à 56-57°, soit à 60-62° : c'est donc à la température qui ne les rend pas anticomplémentaires que ces sérums devront être inactivés, lorsqu'on se proposera de les employer pour une réaction de déviation du complément.

Sérum de Cheval. — Le plus souvent, le sérum de Cheval ne contient pas d'alexine; il n'y a donc pas lieu dans les cas habituels de l'inactiver. Mais, si dans une circonstance exceptionnelle, on décelait dans un sérum de Cheval de l'alexine, on devrait la faire disparaître par le chauffage à 60-62° (1).

Le tableau suivant indique avec quelle fréquence les températures comprises entre 54 et 62° rendent le sérum de Cheval anticomplémentaire; il fournit aussi des indications sur l'intensité du pouvoir anticomplémentaire que ce sérum peut acquérir.

Température employée	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
—	—	—
54-55°	100 p. 100	de 1/1 à 1/40
56-57°	41 p. 100	de 1/1 à 1/4
60-62°	5,8 p. 100	de 1/1 au maximum

Sérum de Cobaye. — Le sérum de Cobaye acquiert par le chauffage, avec une très grande fréquence, un pouvoir anticomplémentaire très élevé.

(1) C'est également à 60-62° que l'on devra chauffer le sérum de Cheval pour faire disparaître son pouvoir anticomplémentaire naturel.

Température employée	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	47,6 p. 100	inférieur à 1/4 dans 75 p. 100 des cas.
56-57°	76 p. 100	inférieur à 1/4 dans 79 p. 100 des cas.
60-62°	89 p. 100	inférieur à 1/4 dans 33 p. 100 des cas.

Le chauffage à 54-55° développe donc moins souvent le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cobaye que le chauffage à 56-57° et surtout que le chauffage à 60-62°. Mais le sérum de Cobaye, chauffé à 54-55°, devient encore très fréquemment anticomplémentaire et, dans 50 p. 100 des cas, le taux de son pouvoir anticomplémentaire dépasse 1/1; il peut même atteindre dans 4 p. 100 des cas 1/32. Le sérum de Cobaye, s'il est inactivé par la chaleur à 54-55°, possède donc, dans 25 p. 100 des cas environ, un pouvoir anticomplémentaire qui ne permet pas de l'employer pour la recherche de la réaction de fixation du complément (1).

Sérums humains. — Les sérums humains sont ceux que l'on aura le plus souvent l'occasion d'inactiver en employant l'action de la chaleur. Mais, les sérums humains sont aussi ceux sur lesquels les températures, comprises entre 54 et 62°, exercent l'action la plus variable.

Les *sérums des nouveau-nés*, dans une très forte proportion de cas, ne contiennent pas d'alexine, il est donc rarement nécessaire de les inactiver. Dans les cas où les sérums de nouveau-nés devront être inactivés, il faudra soigneusement choisir la température à laquelle on aura recours, ainsi que l'indique le tableau suivant.

(1) On doit toutefois remarquer que 50 p. 100 des sérums de Cobaye chauffés à 54-55° et 43 p. 100 des sérums de Cobaye chauffés à 56-57° ont un pouvoir anticomplémentaire de 1/1. Or, les sérums qui possèdent ce faible pouvoir anticomplémentaire — sérums animaux ou sérums humains — peuvent être employés pour la réaction de fixation du complément, si la recherche est faite en suivant une technique qui sera indiquée plus loin

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	77 p. 100	inférieur à 1/2 = 70 p. 100 supérieur à 1/2 = 10 p. 100
56-57°	58 p. 100	inférieur à 1/2 = 72 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100
60-62°	100 p. 100	inférieur à 1/2 = 15 p. 100 supérieur à 1/2 = 54 p. 100

Les sérums de nouveau-nés devront donc être inactivés de préférence à 56-57° et ne devront jamais être inactivés à 60-62°.

Les *sérums d'enfants* devront également être inactivés à 56-57°.

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	73 p. 100	inférieur à 1/2 = 20 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100
56-57°	37 p. 100	inférieur à 1/2 = 66 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100

Les *sérums d'adultes* se comportent d'une façon bien différente.

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	66 p. 100	inférieur à 1/2 = 100 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100
56-57°	60 p. 100	inférieur à 1/2 = 100 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100
60-62°	66 p. 100	inférieur à 1/2 = 100 p. 100 supérieur à 1/2 = 0 p. 100

Quelle que soit la température employée pour les inactiver, les sérums d'adultes deviennent anticomplémentaires dans au moins 60 p. 100 des cas, mais leur taux anticomplémentaire reste toujours faible.

Les sérums des sujets âgés de plus de 50 ans semblent ne pas acquérir le pouvoir anticomplémentaire lorsqu'ils sont inactivés à 54-55° ou à 60-62°. Au contraire, le chauffage à 56-57° leur donne dans 1/3 des cas un faible pouvoir anticomplémentaire.

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	0 p. 100	—
56-57°	33 p. 100	inférieur à 1/2 = 100 p. 100
60-62°	0 p. 100	—

Le sérum des sujets âgés de plus de 50 ans devra donc être inactivé de préférence soit à 54-55°, soit à 60-62°.

Les conditions où se développe le pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans le sérum des femmes enceintes ne peuvent être comparées aux conditions dans lesquelles se développe le pouvoir anticomplémentaire de chauffage dans les sérums d'adultes.

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	66 p. 100	inférieur à 1/2 = 100 p. 100
56-57°	0 p. 100	—
60-62°	20 p. 100	inférieur à 1/2 = 66 p. 100 égal à 1/2 = 34 p. 100

Les sérums de femmes enceintes devront être inactivés à 56-57°, température qui n'y développe pas le pouvoir anticomplémentaire.

Parmi les sérums, provenant de sujets atteints de troubles pathologiques, les seuls que nous ayons étudiés méthodiquement sont les sérums des cancéreux. Ces sérums devront être inactivés soit à 54-55°, soit à 60-62° (1).

(1) On doit remarquer que les températures, qui rendent anticomplémentaires les sérums des sujets âgés de plus de 50 ans, sont aussi celles qui rendent anticomplémentaires les sérums de cancéreux ; les sérums de cancéreux dont nous avons recherché le pouvoir anticomplémentaire de chauffage provenaient, d'ailleurs, de sujets âgés de 52 à 72 ans.

Températures employées	Fréquence du P.A.C. après chauffage	Taux du P.A.C. après chauffage
54-55°	0 p. 100	—
56-57°	50 p. 100	inférieur à 1/2 = 67 p. 100 supérieur à 1/2 = 33 p. 100
60-62°	0 p. 100	

Les indications que nous venons de donner résument de très nombreuses expériences. Mais les sérums d'adultes ou de sujets âgés de plus de 50 ans, que nous avons examinés, ont été moins nombreux que les sérums de nouveau-nés, d'enfants, de femmes enceintes, ou de cancéreux sur lesquels nous avons étudié l'action du chauffage à 54-55°, à 56-57° et à 60-62°. Nous croyons, cependant, que nos conclusions peuvent être admises sans qu'il soit nécessaire de faire sur leur valeur de trop grandes réserves. Les faits que nous avons rapportés démontrent du moins qu'il est impossible de dire, *à priori*, comme l'ont fait quelques auteurs, qu'on évite plus facilement la formation du pouvoir anticomplémentaire des sérums, quelle qu'en soit l'origine, en les chauffant soit à 54-55°, soit à 56-57°, soit à 60-62°.

INACTIVATION DES SÉRUMS PAR L'EMPLOI DE PROCÉDÉS SPÉCIAUX. — Les deux procédés que nous avons étudiés, le battage et le kaolinage, conviennent également pour l'inactivation des sérums; mais, tandis que le pouvoir anticomplémentaire n'apparaît jamais dans les sérums humains traités par l'une ou l'autre des méthodes, on décèle, au contraire, parfois le pouvoir anticomplémentaire dans les sérums de Cobaye qui ont été soumis au battage ou inactivés par le kaolin.

Inactivation par le battage. — Depuis F. Zeissler (1909), M. Jacoby et A. Schutze (1910), P. Courmont et A. Dufourt (1912), H. Ritze (1913), H. Schmidt (1913 et 1914),

Mart. et Marg. Jacoby (1915), V. Scaffadi (1915), on sait que les sérums frais soumis à l'agitation prolongée, dans des conditions précisées par P. Courmont et A. Dufourt, perdent leur alexine. Nous nous sommes donc proposé avec le Professeur L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Grimard-Steeg de rechercher si, en substituant l'inactivation par le battage à l'inactivation par la chaleur, on pourrait débarrasser les sérums de leur alexine sans développer leur pouvoir anticomplémentaire.

L'appareil, qui fut d'abord employé, fut l'agitateur électrique de Kahn; puis, pour obtenir des résultats plus constants et pour abréger la durée du battage, un nouvel agitateur électrique fut construit sur les indications de M. L. Nattan-Larrier par la Maison Jouan. Cet appareil donne un rendement constant qui atteint facilement 350 oscillations par minute et il peut être maintenu en fonctionnement pendant plus de 12 heures sans subir aucune détérioration. Fixé sur une planche de bois, épaisse de 3 cm., il s'adapte à la crémaillère d'une étuve à cultures ordinaires et ne lui transmet pas de vibrations qui puissent la détériorer ou la dérégler. Un dispositif de suspension appropriée permet de traiter simultanément quatre échantillons de sérum.

Lorsqu'on veut faire usage de l'agitateur, on répartit les sérums que l'on veut inactiver jusqu'à mi-hauteur dans des tubes à centrifuger cylindro-coniques stérilisés dont le diamètre est de 3 cm. 5 (1); chacun de ces tubes reçoit ainsi 7 cc. de sérum, puis est fermé avec un bouchon de caoutchouc stérilisé. Les tubes sont alors fixés par des pinces sur les axes horizontaux de l'appareil. Ils doivent être inclinés à 35° environ et disposés de manière à s'équilibrer. La mise en marche de l'appareil est faite graduellement. Lorsque les oscillations ont atteint la rapidité vou-

(1) Les tubes dont le diamètre est trop faible permettent difficilement d'obtenir un battage satisfaisant. Lorsqu'on introduit une trop forte quantité de sérum dans des tubes dont le diamètre est suffisant, on obtient également de mauvais résultats.

lue, les portes de l'étuve sont fermées pour que le battage se fasse à la température de 37°5. Quand on suppose que la durée du battage a été suffisante, on arrête graduellement le moteur et on dégage les tubes. Les sérums qui ont été soumis à l'agitation deviennent légèrement troubles : il est donc nécessaire de les centrifuger avant d'y rechercher l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire. Après centrifugation les sérums s'éclaircissent en laissant déposer un léger culot formé de globuline pour H. Schmidt et Liebert, ainsi que pour Mart. et Marg. Jacoby.

La disparition de l'alexine dans les sérums soumis au battage se fait graduellement; mais, même lorsque l'on emploie un appareil très bien réglé donnant 350 secousses par minute, l'inactivation de tous les sérums n'est pas obtenue dans les mêmes délais.

L'alexine du sérum de Cobaye disparaît en 3 à 9 heures et on peut admettre que, en pratique, un battage de 6 heures suffit pour inactiver ce sérum; cependant, il est plus prudent de vérifier au bout de 6 heures que l'alexine a bien disparu; si elle persistait encore, on devrait soumettre le sérum à un nouveau battage.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant battage	Taux de l'alexine au cours du battage au bout de				
		3 h.	4 h.	5 h.	6 h.	9 h.
C. 70	1/32	0	...	...	...	...
C. 71 et <i>bis</i>						
(sérums réunis)...	1/32	1/16	...	...	0	...
C. 73, <i>bis</i> et <i>ter</i>						
(sérums réunis)...	1/20	1/8	1/4	1/1	0	...
C. 74	1/32	...	...	0	...	...
C. 75, <i>bis</i> et <i>ter</i>						
(sérums réunis)...	1/20	...	...	1/10	1/10	0

Les sérums humains sont, dans la plupart des cas, inactivés en 5 heures; cependant, il peut être nécessaire de prolonger le battage pendant 11, et même pendant 13 heures.

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant battage	Taux de l'alexine au cours du battage au bout de						
		3 h.	4 h.	5 h.	6 h.	9 h.	10 h.	13 h.
F. E. 69 et 70; gross. 6 et 9 mois, (sérums réunis).	1/10		...	1/4	...	1/2	1/1	0
F. E. 72; gross. 8 mois...	1/8	...	...	0	...	...	...	...
F. E. 73; gross. 6 mois...	1/10	}	}	0	}	}	}	}
F. E. 74; gross. 9 mois...	1/8							
F. E. 76, 77 et 78; gross. 8 mois, (sérums réunis).	1/16	...	...	...	1/1	...	0	...

Les sérums humains, qui ont été inactivés par le battage, ne deviennent pas anticomplémentaires ou montrent seulement des traces de pouvoir anticomplémentaire.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à			P. A. C. après battage
	54-55°	56-57°	60-62°	
F. E. 69 et 70.	0	0	1/1	0
F. E. 72.	0	0	0	0
F. E. 73 et 74.	1/2	0	0	0
F. E. 76, 77 et 78.	1/2	0	0	0

Les sérums de Cobaye qui, inactivés par chauffage, acquièrent un pouvoir anticomplémentaire dont le taux peut être moyen ou fort, deviennent très rarement anticomplémentaires lorsqu'ils ont été inactivés par le battage.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à			P. A. C. après battage
	54-55°	56-57°	60-62°	
C. 70	...	1/4	...	0
C. 71 et <i>bis</i> (sérums réunis)	1/1	1/1	...	0
C. 73, <i>bis</i> et <i>ter</i> (sérums réunis)	...	1/1	...	0
C. 74	...	0	...	0
C. 75, <i>bis</i> et <i>ter</i> (sérums réunis)	1/1	1/1	0	0
C. 93 et 94 (sérums réunis)	1/2	1/3	1/2	1/2
C. 98 et 99 (sérums réunis)	1/4	1/2	1/2	0

Ainsi tandis que 14 sérums de Cobaye, groupés en 7 expériences, acquièrent après inactivation par la chaleur un pouvoir anticomplémentaire faible, moyen, fort ou même très fort, 2 seulement de ces sérums, groupés en une expérience, devinrent anticomplémentaires après avoir été traités par l'agitation pendant 7 heures (1).

Inactivation par le kaolin. — Le sérum est versé dans un tube à centrifuger conique que l'on a stérilisé et est additionné de kaolin lavé et finement pulvérisé dans la pro-

(1) Les sérums qui ont été inactivés par battage peuvent encore devenir anticomplémentaires, lorsqu'ils sont soumis à l'action de la chaleur. Les mêmes températures développent le pouvoir anticomplémentaire dans les mêmes sérums de Cobaye, chauffés à l'état frais ou inactivés par battage avant d'être soumis à l'action de la chaleur; mais les sérums inactivés par agitation, peuvent, dans quelques cas, devenir plus fortement anticomplémentaires. Sur 8 sérums de Cobaye, chauffés à 57°, 6 acquièrent le même pouvoir anticomplémentaire, qu'ils eussent été chauffés directement ou qu'ils eussent été soumis à l'action de la chaleur après avoir été inactivés par battage; 2 sérums devinrent plus fortement anticomplémentaires lorsqu'ils furent inactivés par battage avant d'être chauffés. Les sérums de femmes enceintes, lorsqu'ils ont été inactivés par agitation, acquièrent plus facilement le pouvoir anticomplémentaire de chauffage que les sérums chauffés à l'état frais. Sur 5 sérums chauffés directement à 54°, 2 devinrent anticomplémentaires, tandis que les mêmes sérums devinrent tous les 5 anticomplémentaires lorsqu'ils furent chauffés à la même température après avoir été inactivés par battage.

portion de 10 cgr. pour 1 cc. de sérum. Le tube, bouché au coton, est agité à la main pendant quelques minutes, puis est laissé à la température du laboratoire pendant 16 heures. Le mélange est alors centrifugé pendant 15 minutes et le sérum, séparé du kaolin, est décanté à la pipette à boule. Même après une bonne centrifugation, le culot, formé par le kaolin, reste imprégné d'une importante quantité de sérum : aussi pour pouvoir disposer d'une quantité suffisante de sérum, opérons-nous, autant que possible sur 7 cc. de sérum auquel nous ajoutons 70 cgr. de kaolin.

Le kaolinage, comme des travaux classiques ont permis de l'établir, détermine toujours l'inactivation des sérums, quelle que soit leur richesse en alexine et quelle que soit leur origine (sérum humain, sérum de Cobaye, sérum de Coq).

Origine du sérum	Taux de l'alexine avant kaolinage	Taux de l'alexine après kaolinage
Femme enceinte n° 75, 25 ans; gross. 4 mois.....	1/10	0
Femme enceinte n° 81, 26 ans; gross. 6 mois.....	1/2	0
Femme enceinte n° 82, 25 ans; gross. 8 mois.....	1/4	0
Femme enceinte n° 83, 34 ans; gross. 7 mois.....	1/4	0
Femmes enceintes n° 84, 85 et 86, 19, 23 et 28 ans; gross. 7 mois, 7 mois et 6 mois (sérums réunis).....	1/8	0
Coq	1/1	0
Cobayes n° 86, <i>bis</i> , <i>ter</i> et <i>quater</i> (sérums réunis).....	1/10	0
Cobayes n° 88 et <i>bis</i> (sérums réunis).....	1/8	0
Cobayes n° 89, <i>bis</i> et <i>ter</i> (sérums réunis).....	1/8	0
Cobayes n° 93 et 94 (sérums réunis).....	1/20	0
Cobayes n° 98 et 99 (sérums réunis).....	1/10	0

Si l'on recherche le pouvoir anticomplémentaire dans les sérums qui ont été inactivés par le kaolinage, on constate que tous les sérums ne se comportent pas de la même façon. Les sérums humains et le sérum de Coq ne deviennent pas anticomplémentaires après avoir été inactivés par le kaolinage.

Origine du sérum	P. A. C. après kaolinage
Femme enceinte n° 75.....	0
Femme enceinte n° 81.....	0
Femme enceinte n° 82.....	0
Femme enceinte n° 83.....	0
Femmes enceintes n° 84, 85 et 86.	0
Adulte normal, 20 ans.....	0
Coq.....	0

Les sérums de Cobaye, inactivés par le kaolin, deviennent, au contraire, anticomplémentaires dans 33 p. 100 des cas.

Origine du sérum	P. A. C. après kaolinage
Cobayes 86, <i>bis</i> , <i>ter</i> et <i>quater</i>	0
Cobayes 88 et <i>bis</i>	1/16
Cobayes 89, <i>bis</i> et <i>ter</i>	1/4
Cobayes 93 et 94.....	0
Cobayes 98 et 99.....	0

Le kaolinage ne donne donc pas des résultats également favorables pour l'inactivation de tous les sérums : le sérum humain et le sérum de Coq, soumis à l'action du kaolin perdent leur alexine et ne deviennent pas anticomplémentaires, tandis que le sérum de Cobaye, traité par le kaolin, perd son alexine, mais acquiert parfois un fort pouvoir

anticocomplémentaire (1). On doit remarquer, d'ailleurs, que les sérums de Cobaye (2), qui deviennent anticocomplémentaires par le kaolinage, paraissent être ceux que le chauffage rend le plus fortement anticocomplémentaires.

Origine du sérum	P. A. C. après chauffage à			P. A. C. après kaolinage
	54-55°	56-57°	60-62°	
C. 86, <i>bis</i> , <i>ter</i> et <i>quater</i>	traces	traces	traces	traces
C. 88 et <i>bis</i>	1/16	1/40	1/64	1/16
C. 89 et <i>bis</i>	1/10	1/4	1/16	1/4
C. 93 et 94.....	1/2	1/4	1/2	0
C. 98 et 99.....	1/4	1/2	1/2	0

Méthodes destinées à empêcher le développement du pouvoir anticocomplémentaire de vieillissement

On peut empêcher les sérums d'acquérir le pouvoir anticocomplémentaire de vieillissement soit en les soumettant à l'action de la chaleur, soit en les traitant par le kaolinage.

(1) Les sérums qui ont perdu leur alexine par kaolinage peuvent encore devenir anticocomplémentaires par chauffage, à la condition cependant qu'ils soient susceptibles d'acquérir le pouvoir anticocomplémentaire lorsqu'ils sont directement soumis à l'action de la chaleur. C'est ainsi que sur les 7 sérums de femmes enceintes qui furent inactivés par le kaolin, les seuls qui purent acquérir le pouvoir anticocomplémentaire par chauffage ultérieur furent les sérums de femmes 84, 85, 86, qui furent également les seuls qui devinrent anticocomplémentaires après avoir été chauffés directement. De même tous les sérums de Cobaye après kaolinage, puis chauffage, devinrent anticocomplémentaires, mais tous se montrèrent également anticocomplémentaires lorsqu'ils furent soumis directement à l'action de la chaleur sans avoir été traités au préalable par le kaolin.

(2) On doit remarquer, de même, que les sérums des femmes enceintes 75, 81, 82, 83, le sérum de l'homme adulte cité plus haut, le sérum de Cog, qui ne devinrent pas anticocomplémentaires après avoir été traités par le kaolin n'acquissent pas non plus le pouvoir anticocomplémentaire par le chauffage. Au contraire, les sérums des femmes enceintes 84, 85, 86 possédaient des taux anticocomplémentaires de 1/2 après chauffage à 54-55°, de 1/1 après chauffage à 56-57°, de 1/1 après chauffage à 60-62°. Il reste donc à se demander si le kaolinage donnerait sur tous les sérums humains des résultats aussi favorables que ceux que nous avons constatés.

EMPLOI DU CHAUFFAGE PRÉALABLE. — Nous ne reviendrons pas sur les recherches, qui ont été analysées au chapitre IV. Elles tendent à démontrer que le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ne se développe pas dans un grand nombre des sérums humains qui ont été chauffés à 56-57° avant d'être conservés à + 5. Quant aux sérums qui deviennent anticomplémentaires malgré le chauffage préalable à 56-57°, ils acquièrent toujours un pouvoir anticomplémentaire plus faible que celui des sérums témoins soumis au vieillissement sans avoir été antérieurement chauffés. L'action du chauffage préalable à 56-57° se montre particulièrement nette pour les sérums des femmes enceintes et pour les sérums des cancéreux.

Le chauffage préalable à 54-55° ne paraît pas empêcher d'une façon aussi constante l'apparition du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement, comme le montrent les deux exemples suivants

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. sur sérum non chauffé	P. A. C. sur sérum chauffé à 54-55°
F. E. n° 90.....	41 jours	1/80	1/80
F. E. n° 91.....	37 jours	1/80	1/2

Quant au chauffage préalable à 49°, il n'exerce aucune action sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. sur sérum non chauffé	P. A. C. sur sérum chauffé à 49°
F. E. n° 87, 31 ans; gross. 8 mois.....	49 jours	1/80	1/80
F. E. n° 88, 16 ans; gross. 9 mois.....	49 jours	1/80	1/80
F. E. n° 90, 28 ans; gross. 8 mois.....	41 jours	1/80	1/80
F. E. n° 91, 36 ans; gross. 8 mois.....	37 jours	1/80	1/80

Ces résultats permettent d'établir que la température de 56-57° paraît être celle que l'on doit choisir lorsque l'on veut essayer d'empêcher le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement dans les sérums humains en les soumettant à un chauffage préalable.

EMPLOI DU KAOLINAGE PRÉALABLE.— Les sérums humains conservés à +5° n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou n'acquièrent qu'un faible pouvoir anticomplémentaire s'ils ont été soumis au kaolinage avant d'être placés au frigidaire, alors que les mêmes sérums, soumis aux mêmes conditions, mais non traités par le kaolin, deviennent au contraire très fortement anticomplémentaires.

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. du sérum vieilli non kaoliné	P. A. C. du sérum vieilli kaoliné
F. E. n° 81, 26 ans; gross. 6 mois...	29 jours	1/80	0
F. E. n° 82, 25 ans; gross. 8 mois...	29 jours	1/80	0
F. E. n° 83, 34 ans; gross. 7 mois...	29 jours	1/80	1/1
F. E. n° 84, 85 et 86; 19, 33 et 28 ans; gross. 7, 7 et 6 mois....	23 jours	1/80	0

Le sérum de Coq se comporte comme le sérum humain; conservé à +5° sans avoir été ni chauffé, ni kaoliné, il acquiert le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement, tandis qu'il ne devient pas anticomplémentaire s'il a été kaoliné.

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. du sérum vieilli non kaoliné	P. A. C. du sérum vieilli kaoliné
Coq	12 jours	1/10	0

Au contraire, les sérums de Cobaye, conservés à +5°, qu'ils aient été traités par le kaolin ou ne l'aient pas été,

acquièrent le pouvoir anticomplémentaire. En général, le taux du pouvoir anticomplémentaire est égal dans les sérums kaolinés ou non kaolinés; par exception, cependant, un pouvoir anticomplémentaire plus fort peut apparaître dans un sérum qui a subi le kaolinage.

Origine du sérum	Durée de la conservation à + 5°	P. A. C. du sérum vieilli non kaoliné	P. A. C. du sérum vieilli kaoliné
C. n° 88 et <i>bis</i> (sérums réunis).....	15 jours	1/2	1/2
C. n° 89, <i>bis</i> et <i>ter</i> (sérums réunis).....	16 jours	1/8	1/8
C. n° 86, <i>bis</i> et <i>ter</i> (sérums réunis).....	15 jours	traces	1/1

Le kaolinage n'exerce pas la même action sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement dans tous les sérums, qu'il s'agisse de sérums humains ou de sérums des animaux. Il empêche les sérums des femmes enceintes, et sans doute tous les sérums humains, de devenir anticomplémentaires. Il possède le même pouvoir sur les sérums de Coq. Il reste sans valeur pour prévenir l'apparition du pouvoir anticomplémentaire dans les sérums de Cobaye (1).

Conclusions

1. — Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage ne se développe pas dans les sérums qui sont inactivés à 49°. Le pouvoir anticomplémentaire que peuvent quelquefois posséder les sérums qui ont été chauffés à cette température

(1) Le battage n'exerce pas la même action que le kaolinage sur le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Les sérums humains soumis au battage acquièrent un pouvoir anticomplémentaire aussi fort que les mêmes sérums conservés au frigidaire, sans avoir été inactivés par agitation.

est un pouvoir anticomplémentaire naturel qui préexistait dans les sérums avant qu'ils fussent inactivés : il est thermolabile et disparaît facilement, semble-t-il, après un court chauffage.

2. — Les températures de 54-55°, 56-57°, 60-62° inactivent tous les sérums, mais ne sont pas également aptes à rendre anticomplémentaires tous les sérums quelle que soit leur origine : c'est ainsi que le chauffage à 56-57° ne rend pas anticomplémentaires les sérums de femmes enceintes. On inactivera donc les sérums normaux ou pathologiques en employant, chaque fois qu'on le pourra, des températures dont on saura qu'elles ne sont pas susceptibles de les rendre anticomplémentaires.

3. — Le battage et le kaolinage font disparaître l'alexine des sérums humains sans les rendre anticomplémentaires. Les sérums de Cobaye, soumis au battage, sont inactivés et ne deviennent pas anticomplémentaires; traités par le kaolinage, ces sérums, au contraire, perdent leur alexine, mais deviennent anticomplémentaires dans 40 p. 100 des cas.

4. — Le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ne se développe pas ou reste faible dans les sérums qui ont été chauffés à 56-57° avant d'être conservés à +5°. Le chauffage préalable à 54-55° exerce une action moins favorable sur les sérums que l'on laisse vieillir. Le chauffage à 49° n'empêche pas le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

5. — Les sérums humains qui ont été soumis au kaolinage avant d'être conservés à +5° n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou deviennent faiblement anticomplémentaires. Les sérums de Cobaye, qui ont été kaolinés, acquièrent, au contraire, toujours le pouvoir anticomplémentaire, lorsqu'ils sont soumis à l'action du vieillissement.

CHAPITRE III

PROCÉDÉS DESTINÉS A ÉVITER LES ERREURS DUES AU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DES SÉRUMS

Pour éviter les erreurs que les sérums anticomplémentaires peuvent introduire dans les réactions de Bordet-Gengou ou de Bordet-Wassermann, il est nécessaire soit d'employer des techniques qui permettent d'éviter la perturbation introduite dans ces épreuves par le pouvoir anticomplémentaire des sérums inactivés par chauffage ou vieillissement, soit d'avoir recours à des procédés qui inactivent les sérums sans les rendre anticomplémentaires, soit encore de faire appel à des méthodes de fixation du complément qui n'exigent pas l'usage de sérums inactivés.

Emploi de sérums faiblement anticomplémentaires

Les sérums anticomplémentaires cessent de fixer le complément, s'ils sont dilués à l'aide d'une quantité suffisante d'eau physiologique. Le procédé que nous avons employé pour le dosage du pouvoir anticomplémentaire montre, en effet, que les sérums dont le taux anticomplémentaire correspond à 1/1, à 1/2, ou à 1/4, ne fixent plus l'alexine, s'ils sont dilués le premier à 1 p. 2, le deuxième à 1 p. 4,

le troisième à 1 p. 8. On empêche, de même, la fixation de l'alexine par des sérums dont les taux anticomplémentaires sont de $1/8$, $1/10$, $1/32$, $1/40$, $1/64$, $1/80$, si on les soumet à des dilutions proportionnelles à l'intensité de leur pouvoir anticomplémentaire. Il est, cependant, évident que si l'on fait subir une trop forte dilution à un sérum qui contient une petite quantité de sensibilisatrice, il ne pourra plus être employé pour une réaction de fixation du complément. On doit donc s'efforcer de réduire au minimum le taux anticomplémentaire des sérums destinés aux réactions de fixation du complément et on doit employer des méthodes qui permettent de titrer exactement leur pouvoir anticomplémentaire.

OBTENTION DE SÉRUMS FAIBLEMENT ANTICOMPLÉMENTAIRES.

— Il semble possible d'obtenir des sérums dont le pouvoir anticomplémentaire est moins élevé si on observe certaines précautions en faisant les saignées, en récoltant le sérum, en le conservant et surtout en l'inactivant.

Conditions de la saignée. — Les recherches de Bruni ont montré que, chez le Lapin et chez le Cobaye, le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum subit 4 heures après le repas une élévation qui se maintient pendant quelques heures. On peut supposer qu'il en est de même chez l'Homme. Il semble donc préférable de recueillir le sang humain le matin chez des sujets qui n'ont pas encore pris leur premier repas et de saigner les animaux 12 heures après la dernière distribution d'aliments.

Suivant Kolmer, l'ingestion des lipoides augmente le taux anticomplémentaire du sérum du Lapin. Il sera donc peut-être utile de réduire la quantité des corps gras qui en-

trent dans l'alimentation des sujets dont le sérum possède un taux anticomplémentaire élevé (1).

D'après Tello et d'après Bruni, le pouvoir anticomplémentaire du sérum devient plus fort chez les Cobayes et les Lapins soumis à l'inanition pendant au moins 3 jours (2). Le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum pourrait donc s'exagérer chez les malades qui, par suite d'une lésion des voies digestives, s'alimenteraient difficilement ou chez les sujets qui, au cours d'une infection aiguë, subiraient un jeûne prolongé (3). Lorsque l'on devra rechercher la réaction de fixation du complément sur de pareils malades, on devra donc soit inactiver leur sérum par des procédés qui n'y développent pas le pouvoir anticomplémentaire, soit employer des techniques qui n'exigent pas que le sérum soit inactivé.

Une saignée abondante — de 10 à 20 cc. — détermine chez le Lapin, au bout de 24 heures, un abaissement du pouvoir anticomplémentaire du sérum; de petites saignées de 3 cc., même si elles sont répétées tous les jours pendant 6 jours, n'exercent aucune action sur le taux anticomplémentaire du sérum du Lapin (Bruni). On pourra donc chez l'Homme, comme chez l'animal, répéter les prises de sang destinées à fournir le matériel destiné aux épreuves

(1) Aucune recherche ne paraît avoir été faite sur le rôle que peuvent exercer les protéines alimentaires sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum; on sait seulement que le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum s'élève chez les Lapins qui reçoivent par voie intraveineuse un sérum hétérologue. Cette élévation du taux anticomplémentaire, étudiée par La Grutta, se maintient pendant 72 à 96 heures. On devrait donc laisser s'écouler plus de 4 jours avant de rechercher la réaction de fixation du complément chez les sujets qui auraient reçu une injection d'un sérum thérapeutique.

(2) Les recherches de Tello et Bruni ont montré, au contraire, que le taux anticomplémentaire du sérum n'était pas modifié chez les animaux maintenus à jeun pendant moins de 48 heures. Nous avons constaté, avec le Pr. L. Nattan-Larrier et Mme L. Steeg, qu'il ne se produisait ni élévation, ni abaissement du pouvoir anticomplémentaire du sérum chez les Cobayes laissés à jeun pendant un ou deux jours.

(3) Bruni a constaté que chez les lapins inanitiés, le pouvoir anticomplémentaire du sérum, après avoir atteint son maximum, tendait, vers le 5^e ou 6^e jour, à revenir à son taux primitif, même si le jeûne restait aussi rigoureux.

de fixation du complément sans avoir à craindre d'augmenter le pouvoir anticomplémentaire du sérum (1).

Récolte du sérum. — Les sérums destinés à la recherche de la réaction de fixation du complément doivent être recueillis aseptiquement et ne doivent pas être contaminés au cours des manipulations auxquelles ils sont soumis. Ces précautions doivent être toujours observées et doivent l'être plus rigoureusement encore lorsque les sérums doivent être conservés pendant quelque temps à la température du laboratoire. En effet, d'après Kyutoku, les sérums, où se sont cultivés le staphylocoque blanc, le *Bacterium coli*, le bacille d'Eberth, le *Bacillus subtilis* et sans doute d'autres microbes, acquièrent le pouvoir de fixer le complément (2). On devra donc renoncer à employer pour une réaction de fixation du complément tout sérum qui se sera troublé pendant les quelques jours où il aura été conservé à la température du laboratoire ou maintenu à la glacière.

Les sérums peuvent être légèrement teintés en rouge si le sang dont ils proviennent a été défibriné par battage. Ces sérums faiblement colorés peuvent être employés pour la recherche des réactions de Bordet-Gengou ou de Bordet-Wassermann. Les travaux de Kyutoku ont prouvé, en effet, que l'existence de traces d'hémoglobine ne modifie pas le pouvoir anticomplémentaire des sérums qui n'est augmenté que s'ils présentent une coloration d'un rouge foncé et contiennent de 20 à 25 p. 100 d'hémoglobine. Par conséquent, on pourra défibriner le sang par battage, car le sérum obtenu en centrifugeant ce sang défibriné, ne con-

(1) Le taux anticomplémentaire du sérum deviendrait rapidement normal chez les sujets qui auraient subi une hémorragie abondante, il ne serait pas modifié chez les malades qui auraient subi de petites hémorragies répétées.

(2) Les recherches de Kyutoku ont démontré que les sérums où se sont cultivées des bactéries perdent le pouvoir de fixer le complément s'ils sont filtrés sur bougie de porcelaine. Ce fait semble permettre de penser que les contaminations microbiennes ne développent pas le pouvoir anticomplémentaire des sérums, mais que les corps microbiens, contenus dans les sérums infectés, adsorbent l'alexine.

tiendra jamais qu'une faible quantité d'hémoglobine; mais le matériel destiné à la saignée et à la récolte du sérum devra toujours être stérilisé au four Pasteur, de telle façon qu'il soit parfaitement sec et ne contienne aucune trace d'eau qui pourrait dissoudre les globules rouges.

Suivant La Grutta, le taux du pouvoir anticomplémentaire de chauffage des sérums de Lapin, de Cobaye, de Chien ou de Cheval varie suivant le délai qui s'écoule entre la récolte du sérum et le moment où il est soumis à l'action du chauffage à 56° . Le pouvoir anticomplémentaire serait très faible dans les sérums recueillis depuis moins de 3 heures; il atteindrait son maximum dans les sérums âgés de 7 à 24 heures; il diminuerait dans les sérums âgés de 48 à 72 heures. Rubinstein estime, au contraire, qu'il n'existe aucune relation fixe entre l'apparition du pouvoir anticomplémentaire et la durée de conservation des sérums; mais il conseille, cependant, de se servir de sérums, âgés au maximum de 24 à 48 heures (1).

Conservation du sérum. — Lorsque les sérums humains ne doivent être utilisés que plusieurs jours après avoir été recueillis, on doit les conserver à basse température pour retarder le plus possible le développement du pouvoir anticomplémentaire de vieillissement; mais, même conservés à $+5^{\circ}$, les sérums humains acquièrent rapidement — quelquefois dès le 5^e jour, d'ordinaire vers le 8^e jour — un pouvoir anticomplémentaire élevé. On peut parfois éviter le développement du pouvoir anticomplémentaire, plus souvent on le maintient à un faible taux, en chauffant les sérums humains à $56-57^{\circ}$ avant de les placer au frigidaire.

(1) Les cas où nous avons pu recueillir des sérums humains moins de 7 heures après la saignée, ont été exceptionnels et, en général, nos sérums ne furent examinés que de la 8^e à la 36^e heure. Les tubes stériles, contenant le sang recueilli aseptiquement, étaient placés au frigidaire à $+5^{\circ}$, où la coagulation se faisait; ils étaient retirés de la glacière moins de 48 heures après la saignée et le sérum était alors recueilli: pendant un aussi court délai, le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement n'avait pas eu le temps de se développer.

On réussit mieux encore à empêcher les sérums humains de devenir anticomplémentaires par vieillissement en les traitant par le kaolin avant de les maintenir à +5°.

Les sérums d'origine animale peuvent être conservés plus facilement que les sérums humains sans que le vieillissement parvienne à y développer le pouvoir anticomplémentaire. Nous avons pu ainsi laisser vieillir des sérums de Lapin à +5° pendant plusieurs mois sans qu'ils fussent devenus anticomplémentaires, soit que ces sérums eussent été mis directement au frigidaire, soit qu'ils eussent été chauffés avant d'y être placés (1).

Origine du sérum	Mode de conservation	Durée de la conservation	P. A. C.
—	—	—	—
Lapin 48.....	non inactivé	2 mois	0
Lapin 48.....	inactivé	2 mois	0

Les sérums de Chien se comportent comme les sérums de Lapin : ils n'acquièrent pas le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement, lorsqu'ils sont maintenus à +5° pendant 2 à 6 mois, soit qu'ils aient été placés au frigidaire à l'état frais, soit qu'ils aient été chauffés au préalable à 56-57°.

Les sérums de Cobaye, au contraire, conservés à la glacière, acquièrent, dans 40 p. 100 des cas, un pouvoir anticomplémentaire de vieillissement dont le taux, dans la moitié des cas, dépasse 1/4, et peut s'élever jusqu'à 1/80.

Les sérums de Cheval, maintenus à basse température, perdent leur pouvoir anticomplémentaire naturel, puis acquièrent un pouvoir anticomplémentaire de vieillissement qui s'atténue à son tour, mais ne disparaît que très lentement.

(1) Dans ces dernières conditions, les sérums de Lapin, comme les sérums de Chien, possèdent le pouvoir anticomplémentaire au moment où ils sont placés au frigidaire ; mais, au cours de leur conservation, ils perdent ce pouvoir anticomplémentaire de chauffage, sans acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement.

Inactivation du sérum. — Les sérums humains, — sérums d'enfants, d'adultes ou de vieillards — acquièrent toujours le pouvoir anticomplémentaire lorsqu'ils sont inactivés par vieillissement. Leur taux anticomplémentaire, plus faible pour les sérums d'enfants, plus fort pour les sérums d'adultes, de vieillards ou de femmes enceintes, est au moins égal à $1/20$, mais s'élève d'ordinaire à $1/40$ et même à $1/80$ (1). Les sérums humains, destinés aux épreuves de fixation du complément ne doivent donc jamais être inactivés par vieillissement (2).

L'inactivation des sérums humains par le chauffage à $54-55^{\circ}$, $56-57^{\circ}$ ou $60-62^{\circ}$ doit être préférée à leur inactivation par vieillissement. Elle ne les rend pas toujours anticomplémentaires et leur donne un pouvoir anticomplémentaire dont le taux reste faible ou moyen, si l'on a choisi avec soin la température à laquelle on les a soumis.

Les sérums de nouveau-nés, dans les rares cas où ils devront être inactivés, seront chauffés à $56-57^{\circ}$. Le chauffage à $54-55^{\circ}$ pourra aussi être employé, mais développera plus souvent leur pouvoir anticomplémentaire; dans les deux cas, d'ailleurs, le taux anticomplémentaire de ces sérums ne sera pas élevé. Au contraire, il faudra soigneusement éviter d'inactiver les sérums de nouveau-nés par le chauffage à $60-62^{\circ}$ qui les rend toujours anticomplémentaires et leur donne le plus souvent un taux anticomplémentaire très élevé.

Les sérums d'enfants seront inactivés à $60-62^{\circ}$, température qui ne les rendra jamais anticomplémentaires. Le

(1) Quant aux sérums de nouveau-nés soumis au vieillissement, ils ne deviennent anticomplémentaires que dans 33 p. 100 des cas et acquièrent alors un pouvoir anticomplémentaire dont le taux est très variable, mais est souvent faible.

(2) Les sérums de cancéreux ne deviennent pas toujours anticomplémentaires par vieillissement, mais le pouvoir anticomplémentaire qu'ils peuvent acquérir, presque toujours supérieur à $1/8$, peut s'élever à $1/80$.

chauffage à 56-57° est, après le chauffage à 60-62°, celui qui leur conviendra le mieux, car il ne les rend anticomplémentaires que dans un tiers des cas et leur donne un pouvoir anticomplémentaire faible ou moyen.

Les sérums d'adulte devront être inactivés à 54-55°, température qui ne les rendra anticomplémentaires que dans un quart des cas et provoquera seulement l'apparition d'un faible pouvoir anticomplémentaire. Le chauffage à 56-57° est un peu moins favorable. Le chauffage à 60-62° détermine dans la moitié des cas le développement d'un pouvoir anticomplémentaire dont le taux reste faible.

Les sérums de femmes enceintes devront être inactivés à 56-57° ou à 60-62°, températures qui ne les rendront pas anticomplémentaires, tandis que le chauffage à 54-55° y développera le pouvoir anticomplémentaire dans les deux tiers des cas, tout en leur donnant, cependant, un faible pouvoir anticomplémentaire.

Suivant la plupart des auteurs, les sérums d'origine animale pourraient sans inconvénient être inactivés par vieillissement et ne devraient pas être soumis à l'action de la chaleur si l'on voulait éviter qu'ils pussent devenir anticomplémentaires. Cette formule générale ne paraît pas pouvoir être acceptée.

Les sérums de Cobaye, dans 40 p. 100 des cas, sont rendus anticomplémentaires par le vieillissement et acquièrent ainsi un pouvoir anticomplémentaire dont le taux peut être assez élevé pour rendre difficile la recherche de la réaction de fixation du complément (1). Au contraire,

(1) Le vieillissement à + 5° inactive très lentement les sérums de Cobaye. Après être restés au frigidaire pendant 17 à 31 jours, 46 p. 100 des sérums de Cobaye contiennent encore de l'alexine dont le taux s'est seulement abaissé. Du 31^e au 52^e jour, 28 p. 100 des sérums de Cobaye ne perdent pas leur alexine, dont le taux est seulement notablement réduit. On ne doit donc pas essayer d'inactiver les sérums de Cobaye en les soumettant à l'action du vieillissement (L. Nattan-Larrier et L. Grimard).

les sérums de Cobayes peuvent être inactivés par la chaleur. En les chauffant à 54-55°, on ne les rend anticomplémentaires que dans 47,6 p. 100 des cas et le pouvoir anticomplémentaire, qu'ils peuvent acquérir, est dans les deux tiers des cas inférieur à 1/4. Le chauffage à 56-57° donne de moins bons résultats et le chauffage à 60-62° doit être évité.

Les sérums de Poules ne doivent pas être inactivés par le vieillissement qui y développe toujours un fort pouvoir anticomplémentaire. On doit les inactiver par le chauffage à 56-57° ou par le chauffage à 60-62° qui ne les rend pas anticomplémentaires, tandis que le chauffage à 54-55° y fait apparaître un faible pouvoir anticomplémentaire.

Les sérums de Lapins et les sérums de Chiens ne deviennent pas anticomplémentaires lorsqu'ils sont inactivés par conservation à +5°; mais la disparition de l'alexine paraît se faire lentement dans les sérums que l'on maintient au frigidaire, aussi est-on amené à inactiver ces sérums par la chaleur. Soumis au chauffage à 55-56°, les sérums de Lapin ne deviennent anticomplémentaires que dans 38 p. 100 des cas et acquièrent seulement un pouvoir anticomplémentaire léger ou moyen (Kolmer et Trist). Au contraire, c'est le chauffage à 60-62° qui donne aux sérums de Chien le pouvoir anticomplémentaire le moins élevé, tandis que le chauffage à 55-56° les rend fortement anticomplémentaires.

TITRAGE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE. — Nous ne reviendrons pas sur le procédé, décrit antérieurement que nous avons employé avec le P^r L. Nattan-Larrier et M^{me} L. Steeg. Nous rappellerons, au contraire, les procédés de Kolmer et de Rubinstein.

Kolmer et Trist emploient comme alexine les sérums recueillis sur au moins 2 cobayes; ils les diluent à 1 p. 20

et introduisent 1 cc. de cette dilution dans les tubes à hémolyse où doit être fait le dosage. Ces tubes à hémolyse reçoivent des doses croissantes du sérum dont on veut étudier et doser le pouvoir anticomplémentaire — 0 cc. 05 dans le premier tube, 0 cc. 1 dans le deuxième tube, 0 cc. 2 dans le troisième tube, 0 cc. 4 dans le quatrième tube. etc... — On ajoute alors dans chacun des tubes la quantité d'eau physiologique nécessaire pour égaliser leur contenu. On porte pendant une heure à l'étuve à 37°. On ajoute enfin dans chacun des tubes le système hémolytique : 1 cc. d'une suspension de globules rouges de Mouton — préparée de telle façon qu'elle contienne 2,5 de globules pour 100 d'eau physiologique — et 2 unités hémolytiques de sérum antimouton. Les tubes sont replacés à l'étuve et y sont maintenus pendant une heure à une heure et demie, suivant la rapidité avec laquelle l'hémolyse se fait dans les tubes témoins qui ont été préparés suivant les règles habituelles. Après avoir retiré les tubes de l'étuve, on les met à la glacière et on lit les résultats le lendemain.

M. Rubinstein dose le pouvoir anticomplémentaire des sérums en employant des doses croissantes d'alexine. Tous les tubes à hémolyse reçoivent 0 cc. 2 du sérum dont on veut doser le pouvoir anticomplémentaire. On ajoute dans chacun des tubes de l'alexine à 1/10 dans les proportions suivantes : 0 cc. 1 pour le premier tube, 0 cc. 15 pour le deuxième tube, 0 cc. 2 pour le troisième tube, 0 cc. 25 pour le quatrième tube, 0 cc. 3 pour le cinquième tube. On ramène le volume du contenu de chacun des tubes à 2 cc. en y ajoutant la quantité voulue d'eau physiologique. On laisse les tubes pendant une heure à l'étuve à 37°. On ajoute alors le système hémolytique : 1 cc. d'une suspension à 5 p. 100 de globules rouges de Mouton sensibilisés avec deux unités et demi de sérum hémolytique antimouton. On remet pendant 30 minutes à 37° et on lit les résultats. On dose simultanément l'alexine en disposant l'expérience de la même façon : les tubes reçoivent des quantités croissantes d'alexine, identique à celle contenue dans la pre-

mière série de tubes et on ajoute dans les tubes la quantité d'eau physiologique nécessaire pour ramener leur contenu à 2 cc., soit 1 cc. 9 pour le premier tube, 1 cc. 85 pour le deuxième tube, 1 cc. 80 pour le troisième tube, 1 cc. 75 pour le quatrième tube, 1 cc. 70 pour le cinquième tube. Les opérations se poursuivent ensuite pour la deuxième série de tubes de la façon indiquée pour la première série (dosage du pouvoir anticomplémentaire).

PROCÉDÉS PERMETTANT L'EMPLOI DES SÉRUMS FAIBLEMENT ANTICOMPLÉMENTAIRES. — La technique que nous avons suivie avec le P^r L. Nattan-Larrier et M^{mo} Steeg nous semble permettre d'éliminer les causes d'erreur dues au pouvoir anticomplémentaire des sérums employés pour la réaction de fixation du complément. Après dosage de l'alexine, deux séries de tubes à hémolyse sont préparés. La première série correspond au dosage du pouvoir anticomplémentaire du sérum : l'expérience est disposée suivant la technique que nous avons déjà indiquée. La seconde série comporte la même disposition, mais on ajoute dans chaque tube l'antigène qui correspond à la recherche qui doit être faite. Les deux expériences sont ensuite conduites simultanément et suivant la même méthode — 1^{er} séjour à l'étuve, adjonction du système hémolytique, 2^e séjour à l'étuve, etc. La lecture comparative des résultats montre à partir de quelle dilution du sérum la fixation de l'alexine doit être attribuée à la sensibilisatrice spécifique et non au pouvoir anticomplémentaire du sérum. Il est évident que cette méthode ne peut donner aucun résultat si le taux du pouvoir anticomplémentaire du sérum est trop élevé ou si la sensibilisatrice existe en trop faible quantité dans ce sérum.

Rubinstein a indiqué trois procédés qui permettent d'éliminer l'action du pouvoir anticomplémentaire des sérums. Le premier procédé se fonde sur l'emploi d'une dose d'alexine supérieure à l'unité alexique. Le deuxième pro-

cédé repose sur l'emploi de faibles doses de sérum humain ou animal. Le troisième procédé consiste à mettre en contact la dose normale du sérum à examiner, soit 0 cc. 2, avec une dose renforcée d'alexine et à faire usage de globules rouges de Mouton sensibilisés à 2 unités 1/2.

Le troisième procédé est celui que préconise Rubinstein. L'unité alexique du sérum de Cobaye dilué à 1/10 a été fixée en présence de globules rouges de Mouton sensibilisés à 2 unités 1/2 : le titre alexique du sérum de Cobaye correspond alors soit à 0 cc. 15, soit à 0 cc. 2, soit à 0 cc. 25. Si l'alexine était employée dans les proportions indiquées par ces chiffres, le pouvoir anticomplémentaire des sérums pourrait troubler les réactions et conduire à des résultats erronés. Mais l'action du pouvoir anticomplémentaire cesse d'être une cause d'erreur si l'on augmente la dose d'alexine à laquelle on a recours. La dose optima d'alexine de Cobaye diluée à 1/10 sera ainsi de 0 cc. 3, si l'unité d'alexine était de 0 cc. 15; elle sera de 0 cc. 35, si l'unité d'alexine était de 0 cc. 20; elle sera de 0 cc. 40, si l'unité d'alexine était de 0 cc. 25 (1). Lorsque le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum est particulièrement élevé, les quantités d'alexine que l'on emploie, même si elles sont renforcées, peuvent ne pas être suffisantes pour que le pouvoir anticomplémentaire de ce sérum soit éliminé. Rubinstein recommande alors de diminuer la quantité du sérum anticomplémentaire et de la réduire de 0 cc. 2 à 0 cc. 1, ou à 0 cc. 05.

(1) Cette méthode se rapproche de celle que recommandent Kolmer Trist et Heist, mais est plus précise que celle employée par les sérologistes américains. Ceux-ci se servent, à la dose constante de 1 cc., d'une alexine provenant d'au moins deux Cobayes qu'ils diluent à 1 p. 20. Ils ont recours à la suspension à 2,5 p. 100 de globules de Mouton et emploient 2 unités hémolytiques. L'épreuve de fixation du complément se trouve ainsi disposée de la façon suivante. Une série de tubes à hémolyse reçoivent en quantité décroissante le sérum que l'on veut examiner. On ajoute à chacun des tubes 1/4 de la dose anticomplémentaire de l'antigène et 1 cc. d'une dilution à 1 p. 20 d'alexine de Cobaye. Le mélange est laissé pendant 1 heure à l'étuve. On ajoute alors 2 unités d'hémolysine et 1 cc. de l'émulsion à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton. Après avoir été agités, les tubes sont remis à l'étuve où on les laisse pendant 1 heure ou 1 heure et demie. Au bout de ce temps, les tubes sont placés à la glacière et les résultats sont lus le lendemain.

**Emploi de sérums inactivés
mais dépourvus de pouvoir anticomplémentaire**

Il devient nécessaire de faire disparaître l'alexine par des procédés spéciaux dans les cas où l'inactivation par les méthodes habituelles développe un pouvoir anticomplémentaire trop élevé pour qu'il puisse être corrigé par les méthodes qui viennent d'être décrites.

OBTENTION DE SÉRUMS INACTIVÉS NE POSSÉDANT PAS LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE. — L'inactivation des sérums humains peut être obtenue par le chauffage à basse température, par le kaolinage, par le battage. Les trois procédés permettent de faire disparaître l'alexine sans que les sérums humains acquièrent le pouvoir anticomplémentaire; ils donnent des résultats beaucoup moins intéressants, lorsqu'ils sont employés pour inactiver les sérums animaux.

Inactivation à basse température. — Ce procédé convient parfaitement pour inactiver les sérums humains. Portés à 49° pendant 30 ou mieux pendant 45 minutes, ces sérums perdent toujours leur alexine sans acquérir le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. On doit donc penser que, pour les sérums humains, l'inactivation à 49° devrait être substituée à l'inactivation à 54-62° (1). Le chauffage à 49° ne donne pas d'aussi bons résultats pour

(1) Le chauffage à 49° présente trois inconvénients : 1° il ne fait pas disparaître l'hémolysine antimouton; on doit donc soit débarrasser les sérums humains chauffés à 49° de leur hémolysine antimouton par adsorption, soit ne pas employer un système hémolytique antimouton pour les réactions auxquelles ces sérums sont destinés ; 2° il ne détruit pas le pouvoir anticomplémentaire naturel des sérums; mais ce pouvoir anticomplémentaire est thermolabile et cède à un très court chauffage à 54-55°, qui ne suffit pas pour développer le pouvoir anticomplémentaire thermostable ; 3° il n'empêche pas les sérums de devenir anticomplémentaires par vieillissement.

les sérums de Cobaye, car il diminue très fortement le taux de leur alexine sans déterminer sa disparition. Il est à craindre que l'inactivation à basse température donne les mêmes résultats pour les autres sérums d'origine animale, en particulier pour ceux d'entre eux qui sont riches en alexine.

Kaolinage. — Le kaolin inactive toujours les sérums humains sans les rendre anticomplémentaires. Il empêche, en outre, d'une façon presque constante, ces sérums d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Le kaolinage présente les mêmes avantages pour l'inactivation du sérum de Poule; mais il ne peut être employé pour faire disparaître l'alexine du sérum de Cobaye qu'il rend anticomplémentaire dans 30 p. 100 des cas.

Battage. — Le battage peut être employé pour inactiver les sérums humains et les sérums de Cobaye dont il fait toujours disparaître l'alexine. Il ne provoque jamais le développement du pouvoir anticomplémentaire des premiers, mais, dans quelques rares cas, donne le pouvoir anticomplémentaire aux seconds.

Les trois procédés — chauffage à basse température, kaolinage, battage — pourront être employés lorsqu'on voudra inactiver les sérums humains, sans les rendre anticomplémentaires; mais ils donneront tous trois des résultats irréguliers pour les sérums de Cobaye et en fourniraient peut-être aussi pour les autres sérums d'origine animale (1). L'emploi des deux premiers procédés est très simple et pourra entrer dans la pratique. L'emploi du troisième procédé exige un appareil spécial, rend nécessaire une surveillance attentive et peut demander de multiples dosages d'alexine : l'inactivation par battage sera

(1; Ni le kaolinage, ni le battage ne font disparaître l'hémolysine naturelle antimouton du sérum humain.

donc réservée aux grands laboratoires de sérologie qui doivent déjà avoir recours aux appareils à agitation continue pour le séro-diagnostic de la syphilis par la méthode de Kahn.

Emploi des sérums non inactivés

A l'exception des rares cas où ils sont anticomplémentaires à l'état frais, les sérums humains ne possèdent le pouvoir anticomplémentaire que s'ils ont été traités par le chauffage à 54-62° ou s'ils ont été soumis à l'action du vieillissement; la plupart des sérums d'origine animale ne deviennent anticomplémentaires que lorsqu'ils ont été chauffés à 54-62° et d'une manière moins constante, lorsqu'ils ont été modifiés par le vieillissement. On éviterait donc les erreurs dues au pouvoir anticomplémentaire des sérums si on pouvait les employer à l'état frais pour les réactions de fixation du complément. Mais, en suivant cette technique, on risquerait d'introduire dans les réactions, d'une part un excès d'alexine puisque l'alexine du sérum examiné viendrait s'ajouter à l'alexine de Cobaye, et, d'autre part, un excès d'hémolysine puisque l'hémolysine naturelle antimouton du sérum viendrait s'ajouter à l'hémolysine artificielle antimouton si l'on faisait usage d'un système hémolytique antimouton. On doit noter, d'ailleurs, que la teneur en alexine du sérum humain, examiné dans les mêmes conditions, sans rester toujours identique, présente de faibles variations (Rubinstein). Au contraire, la teneur en hémolysine naturelle antimouton des sérums humains (1) est très variable (Ronchèse). Les sérums de

(1) D'après Kolmer et Williams, chez 36 p. 100 des Lapins, 0 cc. 2 de sérum contiennent assez d'hémolysine antimouton pour déterminer la lyse complète de 1 cc. d'une suspension à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton dans un mélange contenant 0 cc. 05 d'alexine. De même une forte proportion des sérums de Chiens normaux contiennent assez d'hémolysine antimouton et d'alexine pour que 0 cc. 2 de ces sérums puissent déterminer la lyse complète de 1 cc. d'une suspension à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton.

femmes enceintes que nous avons examinés étaient hémolytiques dans 87 p. 100 des cas; dans 62 p. 100 des cas, ils possédaient un taux hémolytique qui ne dépassait pas $1/2$; mais, dans 38 p. 100 des cas, le taux hémolytique s'élevait davantage et il pouvait même atteindre $1/16$. Or, on doit se souvenir qu'un excès d'alexine ou d'hémolysine introduit dans une réaction de Bordet-Gengou peut masquer la fixation du complément et donner une fausse réaction négative.

RÉACTIONS DE FIXATION DU COMPLÉMENT. — Nous décrivons la technique préconisée par Kolmer, Trist et Heist. L'alexine est obtenue par le mélange des sérums d'au moins deux Cobayes. Ces sérums sont dilués à 1 p. 20 et ainsi dilués, sont employés à la dose constante de 1 cc. Les globules rouges de Mouton sont mis en suspension dans la proportion de 2 cc. 5 pour 100 cc. d'eau physiologique. L'hémolysine antimouton est titrée en présence de la quantité constante d'alexine déjà indiquée et de 1 cc. de la suspension à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton : on emploie pour la réaction de fixation 2 unités hémolytiques. Les antigènes sont dilués en eau physiologique et titrés immédiatement avant d'être employés pour la réaction de fixation du complément. Pour titrer le taux anticomplémentaire de l'antigène, on ajoute à 1 cc. d'une dilution à 1 p. 20 d'alexine de Cobaye des quantités croissantes d'antigène; on laisse le mélange pendant une heure à l'étuve à 37° ; on ajoute alors 2 unités d'hémolysine et 1 cc. de la suspension à 2,5 p. 100 de globules rouges de Mouton. Le mélange est remis à l'étuve pendant une heure avant que les résultats soient lus. Les antigènes ainsi titrés sont employés à $1/4$ de leur dose anticomplémentaire.

L'épreuve de fixation du complément est disposée de la façon suivante. Une série de tubes à hémolyse reçoivent en quantité décroissante le sérum que l'on veut examiner; on

ajoute à chacun des tubes $\frac{1}{4}$ de la dose anticomplémentaire de l'antigène et 1 cc. d'une dilution à 1 p. 20 de complément de Cobaye. On égalise le volume du contenu des tubes à l'aide d'eau physiologique et le porte-tubes est laissé pendant une heure à l'étuve à 37°. Au bout d'une heure, on ajoute à chacun des tubes 2 unités d'hémolysine et 1 cc. de l'émulsion à 2, 5 p. 100 de globules rouges de Mouton. Les tubes, après avoir été agités, sont remis à l'étuve où ils sont laissés d'une heure à une heure et demie, jusqu'à ce que l'hémolyse soit complète dans les tubes-témoins. On retire alors les tubes de l'étuve, on les place à la glacière et on lit les résultats le lendemain.

SÉRO-RÉACTION DE LA SYPHILIS. — Dès 1908, Hecht avait proposé de ne pas inactiver le sérum suspect, de le mettre en présence de l'antigène, de laisser la fixation se faire à l'étuve et d'ajouter au bout d'une heure les globules rouges de Mouton. Après 30 minutes de séjour à l'étuve, on lisait les résultats. Dans une réaction ainsi disposée, l'alexine et l'hémolysine antimouton étaient celles contenues dans le sérum humain frais. Mais cette méthode ne présentait pas toute l'exactitude désirable, non en raison des variations de la teneur en alexine des sérums humains, mais à cause des variations très étendues que peut subir l'hémolysine naturelle contenue dans les sérums frais. Aussi la méthode de Hecht a-t-elle subi de multiples modifications. Muttermilch détermine le pouvoir hémolytique du sérum suspect en fixant la quantité maximum des globules rouges de Mouton que ce sérum peut hémolyser, puis n'emploie que le tiers de cette quantité pour la réaction. Ronchèse substitue, d'une part, au système hémolytique antimouton, un système hémolytique anti-homme (globules rouges humains et sérum anti-homme) et, d'autre part, emploie la dose de sérum anti-homme qui peut compenser l'alexine contenue dans le sérum humain suspect. La description de ces méthodes ne trouverait pas sa place ici. Il nous suffit de rap-

peler que l'on peut employer des sérums frais pour la séro-réaction de la syphilis et que l'on évite ainsi les difficultés qui proviennent de l'emploi de sérums qui sont devenus anticomplémentaires après avoir été inactivés par le chauffage ou par le vieillissement.

Conclusions

1. — Les sérums humains, qui ont été recueillis suivant les règles prescrites et que l'on a inactivés en observant les précautions que nous avons indiquées, possèdent le plus souvent un faible pouvoir anticomplémentaire : ils peuvent donc être employés pour les réactions de Bordet-Gengou ou de Bordet-Wassermann, à la condition toutefois que l'on fasse subir à la technique de ces réactions certaines modifications, qui leur permettent de conserver toute leur valeur.

2. — Pour éviter les erreurs dues au pouvoir anticomplémentaire des sérums humains traités par la chaleur ou soumis au vieillissement, on a proposé d'employer ces sérums à l'état frais pour les réactions de fixation du complément ; mais on doit alors faire appel à des méthodes spéciales qui permettent de tenir compte de l'alexine et surtout de l'hémolysine antimouton qui existent dans la plupart des sérums humains qui n'ont pas été chauffés ou qui n'ont pas subi l'action d'une conservation prolongée.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1. — Les sérums normaux qui ont été chauffés à 54-62° et les sérums normaux qui ont été conservés à + 5° pendant au moins huit jours peuvent acquérir la propriété de fixer l'alexine. On dira que les premiers possèdent le pouvoir anticomplémentaire de chauffage et que les seconds possèdent le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement. Enfin les sérums frais qui n'ont été ni chauffés, ni maintenus à + 5° fixent parfois l'alexine: on dira qu'ils possèdent le pouvoir anticomplémentaire naturel.

2. — Les sérums qui ont acquis le pouvoir anticomplémentaire de chauffage le perdent s'ils sont chauffés à 70°. Les sérums qui ont acquis le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement le perdent s'ils sont chauffés à 57°. Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage est thermostable; le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement est thermolabile. Le pouvoir anticomplémentaire naturel est également thermolabile.

3. — Lorsqu'on mélange un sérum anticomplémentaire avec de l'alexine, puis lorsqu'on ajoute au mélange, dans un deuxième temps de la réaction, des globules rouges et le sérum hémolytique correspondant, l'alexine n'exerce pas son action lytique, si le sérum anticomplémentaire a pu la fixer en totalité. On peut donc doser le pouvoir anticomplémentaire d'un sérum en l'ajoutant en quantités décroissantes à une quantité fixe d'alexine. On indique comme taux anticomplémentaire du sérum examiné le taux de la dilution la plus forte que peut subir ce sérum tout en fixant encore en totalité l'alexine. On doit conduire la réaction en

suivant la même méthode et en observant les mêmes précautions que lorsqu'on dispose une réaction de Bordet-Gengou.

4. — Le chauffage et le vieillissement ne développent pas avec une égale facilité le pouvoir anticomplémentaire des sérums recueillis sur toutes les espèces animales : le sérum humain acquiert un pouvoir anticomplémentaire léger ou moyen par le chauffage, mais devient très fortement anticomplémentaire par le vieillissement ; le sérum de Cobaye devient toujours anticomplémentaire lorsqu'il est chauffé, mais devient plus rarement anticomplémentaire lorsqu'il est conservé à $+5^{\circ}$.

Les sérums de tous les animaux appartenant à la même espèce n'acquièrent pas le même taux anticomplémentaire quand ils sont chauffés ou vieillis. L'étude du sérum humain montre que les mêmes températures n'exercent pas la même action sur les sérums des nouveau-nés, des enfants, des adultes ou des vieillards, sur les sérums des femmes enceintes et sur les sérums des cancéreux.

5. — Un sérum anticomplémentaire, employé pour une réaction de Bordet-Gengou ou de Bordet-Wassermann donne une réaction positive, même s'il ne contient pas de sensibilisatrice spécifique ou s'il ne possède pas de réagine antisypilitique. On doit donc essayer d'empêcher le développement du pouvoir anticomplémentaire des sérums destinés à ces réactions ; on a proposé aussi d'essayer de faire disparaître le pouvoir anticomplémentaire de ces sérums ; enfin on a modifié la technique des réactions de Bordet-Gengou et de Bordet-Wassermann de telle façon que le pouvoir anticomplémentaire des sérums ne puisse plus en fausser les résultats.

6. — Les sérums inactivés peuvent seuls être employés pour ces réactions ; mais on rend anticomplémentaires les sérums que l'on inactive par les procédés habituels — en

les chauffant à 54-62° ou en les laissant vieillir. Peut-on donc inactiver les sérums par la chaleur ou par le vieillissement sans les rendre anticomplémentaires? Peut-on les inactiver par des procédés spéciaux qui ne développent pas leur pouvoir anticomplémentaire?

Les sérums humains peuvent être inactivés à 49°, température qui ne les rend pas anticomplémentaires. Pour inactiver certaines catégories de sérums humains, on peut choisir une température comprise entre 54° et 62°, dont on sait qu'elle ne leur donne qu'un faible pouvoir anticomplémentaire ou ne les rend pas anticomplémentaires : le chauffage à 57° par exemple, fait disparaître l'alexine du sérum des femmes enceintes et ne développe pas leur pouvoir anticomplémentaire.

On doit éviter d'inactiver la plupart des sérums humains en les conservant à + 5° ; mais on peut les empêcher d'acquérir le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ou au moins de devenir fortement anticomplémentaires en les chauffant ou en les traitant par le kaolin avant de les conserver au frigidaire.

Le battage et le kaolinage, employés suivant les techniques que nous avons indiquées, inactivent les sérums humains sans les rendre anticomplémentaires.

7. — Il n'existe aucun procédé que l'on puisse employer pour faire disparaître en totalité le pouvoir anticomplémentaire des sérums. Le pouvoir anticomplémentaire de chauffage disparaît à 70°, mais cette température détruit les sensibilisatrices. Le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement disparaît à 57°, mais cette température développe dans la plupart des sérums le pouvoir anticomplémentaire de chauffage. La congélation n'exerce aucune action ou exerce une action très faible sur le pouvoir anticomplémentaire. Le traitement des sérums par les poudres inertes n'abaisse que légèrement leur taux anticomplémentaire.

8. — Lorsque le taux anticomplémentaire des sérums est faible, on peut les employer pour les réactions de Bordet-Gengou ou de Bordet-Wassermann, mais on doit alors modifier la technique de ces réactions, soit en suivant les méthodes préconisées par les sérologistes français et américains, soit en diluant les sérums anticomplémentaires avec la quantité d'eau physiologique nécessaire pour qu'ils ne fixent plus l'alexine.

9. — La nature et l'origine du pouvoir anticomplémentaire sont inconnues. Les hypothèses d'Ehrlich, de Müller, de Noguchi, de Zinsser et Johnson ne peuvent plus être admises. Les études de Lecomte du Noüy, de Coppo, de Machebœuf, de Goldie, de Nattan-Larrier et de ses collaborateurs peuvent suggérer de nouvelles hypothèses, mais elles ne pourront être discutées et soumises au contrôle expérimental que lorsque l'étude physico-chimique des sérums sera plus avancée qu'elle l'est actuellement

VU : *Le Président de Thèse,*

R. FABRE.

VU : *Le Doyen,*

DAMIENS.

VU et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- T. ARAKI. — Ueber die antikomplement. Wirkung des menschlichen Blutserums. (*Acta dermatologica*, 1924, t. II, p. 335).
- C. AUGUSTE. — Sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1934, t. CXVI, p. 770).
- BANG et FORSSMANN. — Untersuchung über die Haemolysinbildung vorl. Mitth. (*Centralbl. für Bakter*, I orig., 1905, t. XL, p. 150).
- BANG et FORSSMANN. — Untersuchung über die Haemolysinbildung. (*Hofmeister Beiträge*, 1906, t. III, p. 238).
- BERGMANN et KENTHE. — Die hemmung der Haemolyse durch inactivirte menschliche Sera. (*Zeitschr. f. exp. Pathologie und Therapie*, 1906, t. III, p. 255).
- BLUMENTHAL. — *Berl. Klin. Woch.* 1911, t. XLVIII, p. 1462.
- J. BORDET et P. GAY. — Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1906, t. XX, p. 467).
- J. BORDET et P. GAY. — L'absorption de l'alexine et le pouvoir antagoniste des sérums normaux. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1906, t. XXII, p. 65.)
- H. BRAUN. — Beitræge zur Kenntniss des Komplementes. (*Biochem. Zeitschr.*, 1911, t. XXXI, p. 65).
- D. BROcq-ROUSSEU, L. NATTAN-LARRIER, G. ROUSSEL et L. STEEG. — Le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cheval. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1938, t. CXXVIII, p. 587).
- C. P. BROWN et J. A. KOLMER. — The preparation of glassware and Saline solutions for the Wassermann reaction : the influence of acids, alkalis and other factors. (*Amer. Journ. of Syph.*, 1919, t. III).
- BROWNING et MC KENZIE. — *Journ. of Path. and Bacteriol.*, 1909-1911, t. XV, p. 182.

Nous adressons tous nos remerciements à M. BROcq-ROUSSEU qui a bien voulu mettre à notre disposition de nombreuses et importantes indications bibliographiques.

- A. BRUNI. — Ricerche sul potere anticomplementare autonomo del Siero. VII. — Il comportamento autonomo del Siero in alcune condizioni sperimentali (periodo digestivo, digiuno, salasso, scottature). (*Gior. Batter.* 1934, t. XII, p. 1029).
- M. COPPO et L. MARFORI. — Stude sui complessi lipoproteici del Siero. Modificazione di essi alla temperatura cosiddetta critica (56°). (*Annali d'Igiene*, 1937, t. XLVII).
- C. F. CRAIG. — The relation of certain bacteria to non specific fixation with the complement fixation test for lues. (*Journ. of Exp. med.* 1911, t. XIII, p. 521).
- R. DEMANCHE. — Précis de technique du sérodiagnostic de la syphilis. 2° édition. (*Gaston Doin, éditeur*, Paris, 1936).
- DOHI. — Beitr. z. Path. u Therap. der Syph., 1911, p. 514.
- J. DUFOUR. — Le taux de l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXVI, p. 498).
- EHRlich et SACHS. — Ueber den Mechanismus der Amboceptor renwirkung. (*Berl. Klin. Woch.*, 1902, t. XXXIX, p. 481 et 492).
- EMANUEL. — Action du salvarsan sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum de Lapin. (*Berl. Klin. Woch.*, 1911, p. 2335).
- EPSTEIN et PRIBRAM. — Action du mercure sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum. (*Zeitschr. f. exp. Pathologie und Therapie*, 1909, t. VII, p. 549).
- R. FABRE et H. SIMONET. — Contribution à l'étude de l'hémolyse. (*Ann. de Physiologie et de Physicochimie biol.*, 1926, n° 4, p. 389).
- F. GENTILE. — Sul potere anticomplementare autonomo del Siero di sangue. VI. — Il potere anticomplementare autonomo del Siero di sangue proveniente de organismi in narcosi. (*Giorn. Batter.* 1934, t. LXXX, p. 521).
- E. GLEY et CAMUS. — A propos de l'existence dans un sérum sanguin d'une action antagoniste de l'action hémolytique. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1901, t. LIII, p. 732).
- H. GOLDIE. — Recherches sur l'alexine et les substances antialexiques du sérum de Cheval. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1936, t. CXXI, p. 1282).
- L. GRIMARD. — Action anticomplémentaire des urines de la femme enceinte et des urines normales. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1936, t. CXXII, p. 1288).

- L. GRIMARD-STEEG et J. DUFOUR. — Variations périodiques du pouvoir anticomplémentaire chez le Cobaye. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXVI, p. 745).
- E. HOFFMANN. — Experimentalle Untersuchungen über die hemmende Wirkung inaktivierter Sera. (*Zeitsch. f. exp. Pathologie und Therapie*, 1907, t. IV, n° 3).
- KARSNER et PEARCE. — *Journ. of exper. med.*, 1912, t. XVI, p. 769.
- J. A. KOLMER. — The relations of serum lipoids and proteins to non specific fixation with normal rabbit and dog sera, (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 46).
- J. A. KOLMER et CASSELMAN. — *Journ. of med. Researches*, 1913, t. XXVIII, p. 369.
- J. A. KOLMER et R. M. PEARCE. — Studies in non specific complement fixation. III. — The influence of splenectomy and anesthetics on the non specific complement fixation sometimes shown by normal rabbit and dog sera. (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 32).
- J. A. KOLMER et M. E. TRIST. — Studies in non specific complement fixation. I. — Non specific complement fixation by normal rabbit serum. (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 20).
- J. A. KOLMER et M. E. TRIST. — Studies in non specific complement fixation. V. — The effect of heat on normal rabbit and dog sera in relation to antilytic and non specific complement fixation reactions. (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 64).
- J. A. KOLMER, M. E. TRIST et G. D. HEIST. — Studies in non specific complement fixation II. — Non specific complement fixation by normal dog serum. (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 27).
- J. A. KOLMER, M. E. TRIST et G. D. HEIST. — Complement fixation in intestinal parasitism of dogs. (*Journ. of Inf. diseases*, 1916, t. XVIII, p. 88).
- J. A. KOLMER ET WILLIAMS. — Hemolysine naturelle antimouton des sérums de Lapin et de Chien. (*Journ. of med. researches*, 1913, t. XXVIII, p. 369).
- T. KYUTOKU. — A Study of the thermolabil and thermostabil antilysin (anticomplementary substances) of human serum. (*Journ. of Immunology*, 1919, t. IV, p. 238).
- LABORATOIRES DAUSSE. — Cholesterine. in Les Remèdes galéniques, 1927, Fasc. IX, p. 1033. *Laboratoires Dausse, éditeurs.*

- L. LA GRUTTA. — Ricerche sul potere anticomplementare autonomo dei Sieri. II. — Il comportamento del potere anticomplementare del Siero di alcune specie animali in rapporto al separazione de esso del coagulo. (*Giorn. di Batter. e Immunol.*, 1933, t. X, p. 515).
- L. LA GRUTTA. — Ricerche sul potere anticomplementare autonomo dei Sieri. III. — Sul comportamento del potere anticomplementare autonomo del Siero per introduzione di proteine eterogenes nell' organismo. (*Giorn. di Batter. e Immunol.*, 1934, t. XII, p. 1001.)
- L. LA GRUTTA. — Ricerche sul potere anticomplementare autonomo dei Sieri. IV. — Sul comportamento del potere anticomplementare autonomo del Siero, introduzione di metalli colloidali nell' organismo. (*Giorn. di Batter. e Immunol.*, 1934, t. XII, p. 1009).
- L. LA GRUTTA. — Ricerche sul potere anticomplementare autonomo dei Sieri. V. — Sul comportamento del potere anticomplementare autonomo del Siero nell' anafilassi. (*Giorn. di Batter. e Immunol.*, 1934, t. XII, p. 1016).
- K. LANDSTEINER et M. VON EISLER. — Ueber Wirkungsweise haemolitisher sera. (*Wiener Klin. Woch.*, 1904, t. XXVII, p. 676).
- K. LANDSTEINER et M. VON EISLER. — Ueber agglutinin und Lysinwirkung. (*Centralbl. f. Bakter.*, I, orig., 1905, t. XXXIX, p. 309).
- M. LAUDAT. — Les constituants chimiques du sang, in G. H. Roger et Léon Binet. *Traité de Physiologie normale et pathologique* t. VII, p. 79, Masson et Cie, éditeurs, 1934.
- LAQUER. — Zur Kenntniss uraemischer Zustände. (*Deut. med. Woch.*, 1901, t. XXVII, p. 744).
- P. LECOMTE DU NOUY. — La température critique du sérum. (*Hermann, éditeur*, Paris, 1936).
- M. A. MACHEBŒUF et G. SANDOR. — *Bull. Soc. de Chimie biol.*, 1932, t. XIV, p. 1168.
- MANTEUFFEL et WOITHE. — *Centralbl. f. Bakter.*, I, orig., 1909, t. XLIII, p. 359.
- MANWARING. — The absorption of hemolytic amboceptor. (*Journ. of Infect. diseases*, 1905, t. II, p. 485).
- MANWARING. — On auxilysins. (*Journ. of Infect. diseases*, 1906, t. III, p. 225).
- MANWARING. — The third serum component. (*Journ. of Infect. diseases*, 1906, t. III, p. 645).

- L. MARFORI. — Modificazioni della struttura fisico-chimica del Siero (complessi lipoproteici) per azione della temp. cosiddetta critica (56-58°). (*These Clinica medica di Roma*, 1936-1937).
- G. MORESCHI. — Zur Lehre von den antikomplementen. (*Berl. Klin. Woch.*, 1905, t. XLII, p. 1181).
- G. MORESCHI. — Zur Lehre von den Antikomplementen. 2. Mitteilung. (*Berl. Klin. Woch.*, 1906, t. XLIII, p. 100).
- MUIR. — Studies on Immunity. (London, 1909).
- MUIR et BROWNING. — On the properties of anti-immun bodies and complementoids. (*Journ. of Hygien*, 1906, t. VI, p. 1).
- MUIR et BROWNING. — On the filtration of serum complement. (*Journ. of Path. and Bacteriology*, 1909, t. XIII, p. 262).
- P. TH. MUELLER. — *Centralbl. f. Bakter*, 1901, t. XXIX, p. 175.
- P. TH. MUELLER. — Ueber die antihaemolysin normaler Sera. (*Centralbl. f. Bakter.*, 1901, t. XXIX, p. 860).
- NATHAN. — *Zeitschr. f. Immunitat.*, 1918, t. XXVII.
- NEISSER et DORING. — Zur Kenntnis der haemolytischen Eigenschaften des menschlichen Serum. (*Berl. Klin. Woch.*, 1901, t. XXXVIII, p. 593).
- NEISSER et FRIEDMANN. — Ueber amboceptoidbildung in einen uraemischen serum. (*Berl. Klin. Woch.*, 1902, t. XXXIX, p. 677).
- L. NATTAN-LARRIER et L. GRIMARD. — Action combinée de la chaleur et du vieillissement sur le pouvoir anticomplémentaire. (*C. R. de la Soc. biol.*, 1937, t. CXXV, p. 116).
- L. NATTAN-LARRIER et L. GRIMARD. — Action du vieillissement sur l'alexine du sérum humain. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 512).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXIV, p. 1144).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Action de l'âge, et de la gestation sur la résistance à la chaleur du pouvoir anticomplémentaire. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXIV, p. 1278).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Action du vieillissement sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 113).

- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Pouvoir anticomplémentaire du sérum de Cobaye. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 270).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — L'alexine chez le nouveau-né. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 358).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Action de la congélation sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 640).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD et J. DUFOUR. — Relations entre l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire du sérum. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXV, p. 850).
- L. NATTAN-LARRIER, L. GRIMARD-STEEL et J. DUFOUR. — Inactivation des sérums par agitation et développement du pouvoir anticomplémentaire. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1937, t. CXXVI, p. 1095).
- L. NATTAN-LARRIER, L. STEEL et J. DUFOUR. — Inactivation des sérums par le kaolin et développement du pouvoir anticomplémentaire. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1938, t. CXXVII, p. 1207).
- L. NATTAN-LARRIER, L. STEEL et J. DUFOUR. — Le pouvoir anticomplémentaire naturel. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1938, t. CXXVIII, p. 861).
- L. NATTAN-LARRIER, L. STEEL et J. DUFOUR. — Les caractères du pouvoir anticomplémentaire naturel. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1938, t. CXXVIII, p. 1031).
- L. NATTAN-LARRIER, L. STEEL et J. DUFOUR. — Le choix d'une température d'inactivation des sérums. (*C. R. de la Soc. de biol.*, 1938, t. CXXVIII, p. 1044).
- H. NOGUCHI. — Serum diagnosis of syphilis. 1910.
- H. NOGUCHI. — The thermostable anticomplementary constituents of the blood. (*Journ. of Exp. medicine*, 1906, t. VIII, p. 726).
- R. PFEIFFER et FRIEDBERGER. — *Deut. med. Woch.*, 1905, n° 1 et n° 29.
- R. PFEIFFER et FRIEDBERGER. — Beitrag zur Lehre von den antagonistischen serumfunktionen. (*Centralbl. f. Bakter.*, 1906, t. XLI, p. 223).
- R. PFEIFFER et C. MORESCHI. — Ueber scheinbare antikomplementäre und Antiambozeptorwirkungen präzipitierender Sera im Tierkorper. (*Berl. Klin. Woch.*, 1906, n° 2).

- PICK et PRIBRAM. — *Biochim. Zeitschr.*, 1908, t. XI.
- ROSSI. — *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1909, t. I, p. 429.
- M. RUBINSTEIN. — *Traité pratique de Sérologie et de Sérodiagnostic*. Nouvelle édition. (N. Maloine, éditeur, Paris, 1932).
- H. SACHS. — Gibt es einheitlich Alexinwirkung. (*Berl. Klin. Woch.*, 1902, t. XXXIX, p. 216).
- H. SACHS. — Ueber Komplementoid. (*Centralbl. f. Bakter.*, I, orig., 1905, t. XL, p. 125).
- H. SACHS. — Ueber des Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren, bei der Haemolyse. (*Deut. med. Woch.*, 1905, t. XXXI, p. 705).
- G. SANDOR. — *Thèse de la Fac. des Sciences de Paris*, 1933.
- G. SATTA et A. DONATI. — Untersuchungen über die Komplemenbildungsreaktion. (*Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Thera.*, I, orig., 1910, t. VII, p. 702).
- H. SENATOR. — Ueber die haemolytische Eigenschaft des Blutserums bei Uraemia. (*Berl. Klin. Woch.*, 1904, t. XLI, p. 181).
- SCHILLING et HÜESSLIN. — *Deut. med. Woch.*, 1908, t. XXXIV, p. 1422.
- STYLIANOPOULOS et PHÉLOUKIS. — Sur la neutralisation du pouvoir anti-complémentaire et empêchant non spécifique du sérum de mulet et d'âne. (*C. R. de la Soc. de biol.* 1930, t. CIV, p. 834).
- F. TALLO. — Sul potere anticomplementare « autotropo » del Siero di sangue in condizioni varie dell' organismo e in rapporto alla reazione di Wassermann. (*Boll. dell' Inst. Sier. Milanese*, 1923-1924, t. III, p. 129).
- H. ZINSSER et W. C. JOHNSON. — On the heat sensitive anticomplementary bodies in human blood serum. (*Journ. of exp. medicine*, 1911, t. XIII, p. 31).
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION ET HISTORIQUE.....	1
---------------------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — LA RECHERCHE DU POUVOIR ANTICOMPLÉ- MENTAIRE DU SÉRUM.....	9
DOSAGE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	10
Procédé habituel et évaluation du taux anticom- plémentaire	10
Autres procédés	14
<i>Procédé de Zinsser et Johnson</i>	14
<i>Procédé de Kyutoku</i>	14
<i>Procédé de La Grutta</i>	15
<i>Procédé de Kolmer et Trist</i>	15
CONDITIONS DE LA RECHERCHE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMEN- TAIRE	16
Récolte des sérums	16
Titrage du sérum antimouton	17
Recherche et élimination de l'hémolysine natu- relle antimouton	17
Précautions à prendre pour le nettoyage de la ver- verie	19
CAUSES D'ERREURS	19
Erreurs dues aux produits de désintégration des globules rouges	19
Erreurs dues aux contaminations microbiennes ..	20
CONCLUSIONS	21

<i>CHAPITRE II.</i> — LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE CHEZ L'HOMME ET DANS QUELQUES ESPÈCES ANIMALES	22
LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM HUMAIN	25
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion de la chaleur	25
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion du vieillissement	29
Pouvoir anticomplémentaire naturel	32
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums ne contenant ni alexine, ni hémolysine</i>	32
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums con- tenant de l'alexine et de l'hémolysine</i>	33
LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM DE COBAYE ..	36
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion de la chaleur	36
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion du vieillissement	38
Pouvoir anticomplémentaire naturel	39
LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM DE CHEVAL	39
Pouvoir anticomplémentaire naturel	40
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion de la chaleur	40
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion du vieillissement	41
LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DU SÉRUM DE CÔQ	42
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion de la chaleur	43
Pouvoir anticomplémentaire développé sous l'ac- tion du vieillissement	43
CONCLUSIONS	43
 <i>CHAPITRE III.</i> — LES VARIATIONS DU POUVOIR ANTICOMPLÉ- MENTAIRE	45
L'ÂGE ET LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	45
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauf- fés</i>	45
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieil- lis</i>	46

LE RYTHME SEXUEL ET LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE..	47
Le pouvoir anticomplémentaire chez les femmes enceintes	47
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés</i>	47
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieilliss</i>	47
Le cycle génital et le pouvoir anticomplémentaire chez le Cobaye	48
LES ÉTATS PATHOLOGIQUES ET LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	50
Le pouvoir anticomplémentaire chez les cancéreux.	52
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums chauffés</i>	52
<i>Pouvoir anticomplémentaire des sérums vieilliss</i>	53
VARIATIONS « PHYSIOLOGIQUES » DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	53
CONCLUSIONS	55

CHAPITRE IV. — ACTION DU FROID ET DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	56
ACTION DU FROID SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE ..	56
Pouvoir anticomplémentaire de chauffage	56
<i>Action du froid sur le pouvoir anticomplémentaire acquis</i>	57
<i>Action du froid sur le développement du pouvoir anticomplémentaire</i>	58
Pouvoir anticomplémentaire de vieillissement	58
<i>Action du froid sur le pouvoir anticomplémentaire acquis</i>	58
<i>Action du froid sur le développement du pouvoir anticomplémentaire</i>	59
ACTION DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	60
Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire naturel	60
Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire de chauffage	62

Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire de vieillissement	63
Action de la chaleur sur le pouvoir anticomplémentaire acquis	63
Action de la chaleur sur le développement du pouvoir anticomplémentaire	65
CONCLUSIONS	70

CHAPITRE V. — HYPOTHÈSES ET DISCUSSIONS SUR L'ORIGINE DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

71

LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE EST-IL DU A L'EXISTENCE D'UNE SUBSTANCE ANTICOMPLÉMENTAIRE ?	71
Existe-t-il une substance anticomplémentaire thermostable ?	72
La théorie de Müller	73
La théorie d'Ehrlich et de Sachs	79
Existe-t-il une substance anticomplémentaire thermolabile ?	84
LA RÉPARTITION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE ENTRE LES LIPOÏDES ET LES PROTÉINES DU SÉRUM	88
LE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE ET L'ÉQUILIBRE PROTÉINO-LIPOÏDIQUE DES SÉRUMS	89
CONCLUSIONS	94

SECONDE PARTIE

CHAPITRE I. — PROCÉDÉS DESTINÉS A DÉTERMINER LA DISPARITION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE.....

95

FILTRATION DES SÉRUMS ANTICOMPLÉMENTAIRES SUR BOUGIE .	95
TRAITEMENT DES SÉRUMS ANTICOMPLÉMENTAIRES PAR LES POUDRES INERTES	97
Sulfate de baryum	97
Noir animal et charbon végétal	98
Kaolin	98
TRAITEMENT DES SÉRUMS ANTICOMPLÉMENTAIRES PAR LA CHALEUR	99
Pouvoir anticomplémentaire de vieillissement ..	100
Pouvoir anticomplémentaire naturel	101

ESSAIS D'ADSORPTION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE PAR LES GLOBULES ROUGES	102
NEUTRALISATION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE PAR L'ALEXINE	105
CONCLUSIONS	109

CHAPITRE II. — PROCÉDÉS DESTINÉS A EMPÊCHER LA FORMATION DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE,

110

MÉTHODES DESTINÉES A INACTIVER EXTEMPORAINEMENT LES SÉRUMS SANS DÉVELOPPER LEUR POUVOIR ANTICOMPLÉ- MENTAIRE	110
Inactivation des sérums par la chaleur	111
<i>Inactivation à 49°</i>	111
<i>Inactivation de certains sérums à des tempé- ratures déterminées comprises entre 54° et 62°</i>	114
Inactivation des sérums par l'emploi de procédés spéciaux	118
<i>Inactivation par battage</i>	118
<i>Inactivation par kaolinage</i>	122
MÉTHODES DESTINÉES A EMPÊCHER LE DÉVELOPPEMENT DU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DE VIEILLISSEMENT	125
Emploi du chauffage préalable	126
Emploi du kaolinage préalable	127
CONCLUSIONS	128

CHAPITRE III. — PROCÉDÉS DESTINÉS A ÉVITER LES ERREURS DUES AU POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DES SÉRUMS.....

130

EMPLOI DES SÉRUMS FAIBLEMENT ANTICOMPLÉMENTAIRES ..	130
Obtention de sérums faiblement anticomplémentaires	131
<i>Conditions de la saignée</i>	131
<i>Récolte du sérum</i>	133
<i>Conservation du sérum</i>	134
<i>Inactivation du sérum</i>	136
Titrage du pouvoir anticomplémentaire	138

Procédés permettant l'emploi de sérums faiblement anticomplémentaires	140
EMPLOI DE SÉRUMS INACTIVÉS MAIS DÉPOURVUS DE POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE	142
Obtention de sérums inactivés ne possédant pas le pouvoir anticomplémentaire	142
<i>Inactivation à basse température</i>	142
<i>Kaolinage</i>	143
<i>Battage</i>	143
EMPLOI DE SÉRUMS NON INACTIVÉS	144
Réaction de fixation du complément	145
Séro-réaction de la syphilis	146
CONCLUSIONS	147
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....	1 48
BIBLIOGRAPHIE.....	153
TABLE DES MATIÈRES	1 61
